ARCHIVES ROUMAINES

DE

PATHOLOGIE EXPÉRIMENTALE

ET DE

MICROBIOLOGIE

Fondées par J. CANTACUZÈNE

Dirigées par

C. IONESCO-MIHAIESTI

Professeur à la Faculté de Médecine de Bucarest

Tome VII — 1934

MASSON ET C^ie^, ÉDITEURS

LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

120, Boulevard Saint-Germain, PARIS (VI^e^)

Digitized by the Internet Archive
in 2025

https://archive.org/details/romanian-archives-of-microbiology-and-immunology_1934-03_7_1

Dr J. Carracido

13/25 Novembre 1863 - 14 Janvier 1934

L'ÉCOLE ROUMAINE *de Médecine expérimentale est en deuil. Son fondateur, le Directeur de cette Revue, notre grand et vénéré Maître, le professeur Jean CANTACUZÈNE, est mort.*

Ce deuil est trop récent pour que nous puissions songer à tracer maintenant un portrait digne de notre chef. Sa disparition si soudaine nous a plongés dans un état de stupeur indignée contre le destin aveugle qui l'a terrassé en pleine activité créatrice. La douleur unanime provoquée par cette mort porte témoignage de l'immensité de notre perte.

Rarement Maître sut inspirer à ses élèves plus d'affection et plus d'attachement. Il était adoré par ceux dont il orientait les études et guidait les recherches. Son intrépide jeunesse d'esprit et de cœur soutenait leur enthousiasme et le justifiait. Par son savoir étendu et par son intelligence lucide, il écartait les obstacles qui nous arrêtaient en cours de route; par son inoubliable et généreuse bonté, il nous était un réconfort dans les moments de découragement. Il a été un professeur incomparable; plus d'une vocation fut déterminée par ses admirables leçons. Il a provoqué et fait aboutir de nombreux travaux qu'il n'hésitait souvent pas à récrire lui-même pour que ressortît mieux le point digne d'être retenu.

Ses travaux personnels sont des modèles pour la précision du style, de même que pour la rigueur et l'importance des conclusions. Sa critique subtile et son ingéniosité dans la recherche savaient dévoiler la vérité la plus cachée. Jamais foi plus profonde dans la méthode expérimentale n'a porté, avec autant de décision et de clairvoyance, les résultats des recherches de laboratoire sur le terrain de l'application pratique.

Il y avait en lui cet admirable, cet harmonieux équilibre de facultés, en apparence contraires, qui caractérise l'homme complet, type d'humanité supérieure, rarement réalisé dans le cours des générations.

Il aimait la jeunesse qu'il faisait généreusement profiter de

ses vastes connaissances. Il était inaccessible au découragement ou à la fatigue, et le plus modeste de ses élèves trouvait toujours chez lui un entrain jamais en défaut pour lui prodiguer encouragements et conseils. Sa grande autorité, basée sur ses rares et multiples qualités, savait respecter l'indépendance des jeunes tout en orientant et en facilitant leurs efforts.

Ennemi des doctrines rigides en toutes choses, il estimait la valeur d'une théorie scientifique à sa fécondité et soutenait fermement que les périodes les plus fructueuses dans l'évolution créatrice de l'humanité sont celles où les dogmes sont ébranlés. Il respectait la vie pour tout ce qu'elle témoignait, à travers les efforts continuels de la nature organisée, d'une aspiration sans fin vers un état de conscience péniblement atteint.

La mort, qui a brutalement ravi à notre respectueuse affection un pareil Maître, a mis aussi en deuil deux patries bien-aimées : la Roumanie qui l'a vu naître et qu'il avait servie par son admirable et féconde activité, et la France où il avait formé et modelé son esprit, et à laquelle il était attaché par les liens indestructibles d'une affection profondément reconnaissante.

Notre douleur ne s'éteindra qu'avec le dernier qui l'aura connu. Il reposera à l'Institut qu'il a fondé; il y sera encore au milieu de ses élèves et de ses collaborateurs, qui se font un devoir de garder intact l'esprit de l'œuvre qu'il leur a léguée et de rester fidèles à son enseignement. La force impérissable du souvenir portera aux générations futures le témoignage de cette grande et noble vie.

Le 15 janvier 1934.

ARCHIVES ROUMAINES
DE PATHOLOGIE EXPÉRIMENTALE
ET DE MICROBIOLOGIE

TOME VII *N° 1* *MARS 1934*

MÉMOIRES ORIGINAUX

UNE NOUVELLE ESPÈCE DU GENRE *PARANTHOSTOMELLA* et CONSIDÉRATIONS SYSTÉMATIQUES SUR LES *SPHÆRIALES PSEUDOSTROMATÆ*

par

Professeur Tr. SĂVULESCU

PARANTHOSTOMELLA CANTACUZINOI Săvul. nov. spec.

Peritheciis minutissimis, dense confertis, nigris, carbonaceis, cortice subepidermidem immersis, in plectenchymo laxo, brunneo, hyphis intercellularibus nidulantibus, separatis vel hinc inde 2-3 contextu confluentibus, clypeo destitutis, hemisphæricis (supra applanatis infra convexis), glabris, 100-150 μ latis, 50-80 μ altis, vertice ostiolo nigro, brevi-cylindrico vel brevi-obconico, epidermidem perforante, 15-20 μ alto, 30-40 μ lato coronatis, epidermio circa ostiolum vix erumpens tectis ; pariete tenui, 16-22 μ alto, contextu laxe et distincte celluloso, extus nigro, intus pallide-olivaceo; ascis initio fasciculatis, 10-16 in quoque perithecio, subclavatis vel cylindraceis, apice rotundatis vel truncatis, basi tenuato - subsessilibus vel brevissime stipitatis,

aparaphysatis, octosporis, 44-60 × 6,6-11 μ ; sporidiis tristichis, ellipsoideo-navicularibus, utrinque obtusiusculis, continuis, diu hyalinis, maturis flavo-brunneis vel fuligineis, 15-19 μ longis, 5,5-6,6 μ diametro mediano.

Status pycnidiophorus ad *Microdiplodiam* pertinens, cum perithecciis hinc inde intermixtus et ex eodem mycelio connatus; pycnidiis sparsis, cortice immersis, in plectenchymo nidulantibus, unilocularibus, nigris, globosis vel globoso-depressis, 100-150 μ diametro, astomis vel ostiolo brevi pertusis; pariete tenui, minute celluloso, extus atro-brunneo, intus pallidiore subhyalino; sporulis oblongis, utrinque rotundatis, rectis vel leviter curvatis, medio I-septatis, non constrictis, primum hyalinis dein pallide brunneis, 6,6-9 × 2,5-3 μ; sporophoris indistinctis.

Habitat in cortice ramulorum exiccatorum Comandræ elegantis Rchb. Romania, Muntenia, distr. Ilfov, prope pagum Pasărea. 4 Iunio 1932. Dicata in honorem Professoris univ. Dr. I. Cantacuzino, București, Romania.

Notre champignon (fig. 1, *A*), par la forme et la structure des périthèces, correspond aux caractères du genre *Paranthostomella*, donnés par Spegazzini (*Fungi Chilensis*, 42, 1910 ; Sacc., *Syll. Fung.*, XXII, 1, 102, 1913; Clements a. Shear, *The genera of*

Légende de la figure 1

Fig. 1. — *Paranthostomella Cantacuzinoi* Săvul.

A. Un bout de rameau de *Comandra elegans* Rchb. attaqué par *Paranthostomella Cantacuzinoi* Săvul. (× 2.)

B. Périthèces en section longitudinale. B_1 = périthèce fermé, avec le faisceau d'asques à l'intérieur, entouré par le mycélium intercellulaire, à cellules courtes et brunes. B_2 = périthèce sans asques, ouvert, avec le disque fertile à la base. B_3 = deux périthèces connexes par leur paroi. B_4 = périthèce avorté et transformé en un sclérote dont s'échappent de courts filaments aériens.

C. Cellules de la paroi des périthèces, vues d'en face.

D. Faisceau d'asques fixé encore sur leur disque fertile. Lorsqu'on écrase un périthèce sous le microscope, on voit nager dans le liquide de ces faisceaux d'asques jeunes.

E. Fragments de mycélium, tortueux, irréguliers, à parois grosses et brunes. *h* = cellules constituantes vues d'en haut.

F_1 F_2 = différentes formes d'asques remplis d'ascospores. F_3 = un asque vu d'en haut ; on voit la disposition tristiche des ascospores.

G. Ascospores.

H. Une pycnide profonde, stérile et astome, écrasée sous le microscope. On voit la structure de la paroi, les conidiophores et l'absence de conidies.

I. Une pycnide superficielle, fertile et pourvue d'un ostiole. On voit la structure de la paroi et les conidies, libres au milieu de la pycnide.

J. Conidies bicellulaires, brunâtres, du type *Microdiplodia*.

B1
50 µ
B2
A
B4
30 µ
B3
C
15 µ
D
50 µ
h
E
h
10 µ
F1
F1
F1
H
50 µ
F2
G
10 µ
J
I
50 µ

FIG. 1.

Fungi, 64, 263, 1931). En effet, il présente les périthèces confondus dans l'écorce, entourés d'un mycélium qui forme une espèce de plectenchyme, mais jamais un clypeus (fig. 1, *B*). Les cellules de l'écorce de la plante nourricière disparaissent par endroits complètement et, à leur place, on voit les hyphes du champignon, tortueux, à cellules très courtes (fig. 1, *E*) et d'une couleur brune ou brunâtre. Les hyphes deviennent plus denses à la proximité des périthèces. Par places, où l'action du champignon a été plus énergique et où le parenchyme de l'écorce de la plante nourricière est digéré, il ne reste intacte que la cuticule de l'épiderme. Les périthèces présentent un ostiolum qui perce à peine l'épiderme et ont une péridie carbonacée, mince, cassante, avec une structure cellulaire lâche et évidente (fig. 1, *C*). Les asques, dépourvus des paraphyses, naissent en faisceaux de 10-16, sur un disque fertile, à la base du périthèce, et contiennent 8 ascospores (fig. 1, *D* et *F*). Les ascospores sont disposées en spirale sur 3 lignes longitudinales et on se rend compte de la disposition tristiche des ascospores surtout quand on regarde l'asque d'en haut (fig. 1, F_2); les ascospores sont unicellulaires, elliptiques ou naviculiformes, brunâtres (fig. 1, *G*), et se mettent en liberté par la gélification de la partie supérieure de l'asque. Souvent les périthèces avortent en se transformant en pelotons stériles, sclérotiques, de 20-50 μ de diamètre (fig 1, B_4). De ces sclérotes sortent quelques filaments mycéliens, à cellules plus allongées que celles des filaments intramatricaux et de couleur brune. Ces filaments s'érigent à la surface de l'écorce en formant de courtes touffes. Les cellules terminales des filaments aériens sont courtes et plus claires que les autres, à peu près hyalines.

L'absence du clypeus à la partie supérieure des périthèces est un caractère de séparation entre le genre *Paranthostomella* et le genre *Anthostomella*. En jugeant d'après les échantillons étudiés par nous, ce caractère se présente avec une netteté qui justifie la distinction faite par Spegazzini.

Ce qui paraît être intéressant chez notre champignon, c'est qu'il présente sur le même mycélium des fructifications périthéciales et des pycnides du type *Microdiplodia*. Ces pycnides sont globuleuses ou globuleuses-aplaties et se trouvent soit sur la même ligne que les périthèces, à l'extérieur de l'écorce, sous l'épiderme, soit plus profondément. Les pycnides profondes (fig. 1, *H*) ont une paroi mince de 17-22 μ et d'un brun foncé. Cette paroi est revêtue à l'intérieur d'une couche hyaline de 15-17 μ, qui porte des conidiophores de 6,6-10,5 μ de longueur, cylindriques ou ren-

flés au sommet. Les pycnides profondes restent tout le temps fermées, et seulement en les écrasant sous le microscope, on constate qu'elles sont stériles, dépourvues de conidies. Les pycnides superficielles (fig. 1, *I*), qui se trouvent sous l'épiderme, s'ouvrent à l'extérieur par un orifice peu proéminent, ont une paroi plus mince encore, 11-16 μ, revêtue à l'intérieur d'une couche fertile hyaline de 4,4-6,6 μ. Ces pycnides superficielles contiennent en abondance des conidies bicellulaires (fig. 1, *J*), allongées, de 6,6-9 $\times$ 2,5 μ. Les conidies sont brunâtres, lorsqu'on les voit en masse; mais examinées séparément, elles ont une teinte plutôt verdâtre-hyaline. La paroi de toutes les pycnides est très cassante et est constituée par des cellules plus petites que celles des périthèces, colorées en brun foncé.

*
**

L'étude de ce champignon nous a permis de suivre de plus près une série de questions d'ordre systématique, morphologique et phylogénétique, et les résultats nous paraissant assez intéressants, nous les exposerons dans ce qui suit.

Avant que Spegazzini *(loc. cit.)* eut séparé le genre *Paranthostomella,* Saccardo (*Syll. Fung.,* 1, 290, 1882) a distingué, dans le genre *Anthostomella,* une section « *Desciscentes* », caractérisée par « Macula stromatica nigra circa ostiolum nulla, v. saltem non indicata ». Cette diagnose correspond *mutatis mutandis* à ce que Spegazzini donne pour son *Paranthostomella* : « Est Anthostomella clypeo nigro circa ostiolum destituta. » Quoique Saccardo a la priorité en distinguant très nettement, par un caractère de haute valeur morphologique et systématique, une section du genre *Anthostomella,* sa dénomination ne peut pas être employée puisque, d'abord, elle n'est pas un nom générique, et puis parce que Saccardo introduit dans sa section non seulement les espèces dépourvues d'un clypeus, mais aussi celles auxquelles on n'a pas encore indiqué un tel organe. Donc, la section de Saccardo est plutôt artificielle que naturelle. Mais, même avant Saccardo, le mycologue Fuckel (*Symb. mycol.,* 116, tab. VI, 36, 1869) décrit un genre qu'il nomme *Myriocarpa* et lequel, d'après les caractères du périthèce et l'absence de tout stroma, correspond parfaitement à ce que, beaucoup plus tard, Spegazzini a nommé *Paranthostomella.* En décrivant son genre, Fuckel souligne même l'absence du stroma et, par ce caractère, le distingue des genres à stroma ou à clypeus (par exemple, *Clypeosphæria*) : « Eine

Stroma konnte ich nicht entdecken. Die Verwandschaft mit der folgenden Gattung ist unverkennbar. »

Fuckel décrit, à son genre *Myriocarpa*, deux espèces : *M. Cytisii* Fuckel et *M. Loniceræ* Fuckel ; la première présente aussi la forme assexuée sous forme de pycnides qui correspondrait, d'après sa description, à une *Septoria*. En comparant les diagnoses des espèces de Fuckel et celles de Spegazzini, on se rend immédiatement compte de l'identié entre le genre *Myriocarpa* Fuckel (1869) et le genre *Paranthostomella* Spegazzini (1910),

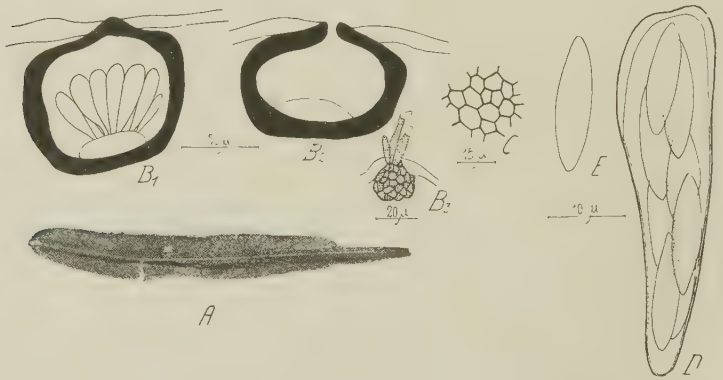


Fig. 2. — *Paranthostomella Cytisii* (Fuck.) Săvul.

A. Portion de la tige de *Genista sagittalis* attaquée par *Paranthostomella Cytisii* (Fuck.) Săvul. (× 1 1/2.)

B. B_1 = périthèce fermé, avec les asques. B_2 = périthèce ouvert. B_3 = périthèce avorté, transformé en un sclérote dont sortent de courts filaments aériens.

C. Cellules de la paroi du périthèce, vues d'en face.

D. Asque avec ses ascospores.

E. Ascospore.

(Dessins exécutés d'après les exemplaires originaux de Fuckel, *Fungi rhenani*, n° 1571.)

et les lois de nomenclature imposeraient d'employer le nom donné par Fuckel. Malheureusement, ce même nom de *Myriocarpa* fut donné antérieurement par Bentham (*Bot. Voy. Sulph.*, 168, t. 55, 1844) pour un genre de la famille des *Urticacées*. Donc, la dénomination de *Paranthostomella* a le droit de la circulation scientifique.

Nous avons eu l'heureuse possibilité de vérifier l'identité entre *Paranthostomella* Speg. et *Myriocarpa* Fuck., en étudiant aussi les matériaux originaux de ce dernier. Comme nous l'avons

déjà dit, Fuckel décrit à son genre deux espèces : *Myriocarpa Cytisii* Fuck. et *Myriocarpa Loniceræ* Fuck.

Myriocarpa Cytisii Fuck. Exemplaires étudiés : Fuckel, *Fungi rhen.*, n° 1571, I, et n° 2324, II. Présente de nombreux petits périthèces (fig. 2. *A*), noirs, carbonacés, confondus dans l'écorce sous l'épiderme, pourvus d'un court ostiole qui perce à peine l'épiderme, globuleux, aplatis à la partie supérieure, 100-150 μ de diamètre (fig. 2, *B*), possédant une péridie à structure cellulaire (fig. 2, *C*), lâche et carbonacée. A l'intérieur du périthèce naissent en faisceaux les asques, sans paraphyses, fixées à la base sur un

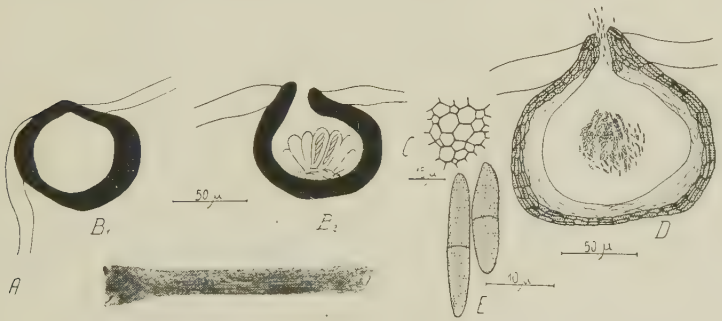


Fig. 3. — *Paranthostomella Loniceræ* (Fuck.) Săvul.

A. Un bout de rameau de *Lonicera alpigena* attaqué par *Paranthostomella Loniceræ* (Fuck.) Săvul. (× 1 1/2.)

B. Périthèces. B_1 = périthèce fermé. B_2 = périthèce ouvert, avec les asques à l'intérieur.

C. Cellules de la paroi du périthèce vues d'en face.

D. Pycnide fertile appartenant à *Microdiplodia ascochytula* (Sacc.) Allesch. On voit la structure de la paroi et les conidies en liberté à l'intérieur.

E. Conidies bicellulaires, brunâtres, du type *Microdiplodia*.

(Dessins exécutés d'après les exemplaires originaux de Fuckel, *Fungi rhenani*, n° 2323.)

disque fertile; ces asques ont la forme de massue, 50-60 × 11-12 μ, avec 8 ascospores disposées en deux rangées longitudinales (fig. 2, *D*). Les spores sont hyalines au début, mais deviennent brunes avec le temps, sont unicellulaires (fig. 2, *E*), et leur dimension est de 20-24 × 7-8 μ. Les périthèces sont dépourvus de stroma et sont entourés d'un plectenchyme formé par des filaments bruns. Nous n'avons vu dans nos préparations des pycnides du type *Septoria*.

Myriocarpa Loniceræ Fuck. Exemplaires étudiés : Fuckel, *Fungi rhen.*, n° 2323. Nombreux périthèces ponctiformes, petits (fig. 3, *A*), noirs, carbonacés, sub-globuleux, enfouis dans l'écorce

sous l'épiderme, entourés d'un plectenchyme brun, sans stroma ni clypeus, 80-150 μ, pourvus d'un ostiolum court, conique (fig. 3, *B*). La péridie a une structure cellulaire lâche, bien évidente (fig. 3, *C*). Les asques naissent en faisceaux sur un disque fertile de la base des périthèces, sans paraphyses, et possèdent huit spores disposées sur deux rangs, unicellulaires, hyalines, un peu verdâtres (les spores sont jeunes). La chose intéressante est d'avoir trouvé dans les matériaux de Fuckel, comme pour notre espèce, des pycnides du type *Microdiplodia* sur le même mycélium que les périthèces. Ces pycnides sont globuleuses ou subglobuleuses, sont plongées dans l'écorce comme les périthèces et se trouvent entourées par un plectenchyme de filaments mycéliens (fig. 3, *D*). Leur diamètre est de 100-200 μ et leur péridie est plus mince que celle des périthèces, d'un brun foncé. Dans leur partie supérieure, les pycnides présentent un ostiolum qui sort à peine de l'épiderme. A l'intérieur, elles sont tapissées par une couche fertile qui donne naissance aux spores allongées-cylindriques, 9-12 × 2,5-3 μ, qui ont une cloison au milieu et ne sont pas étranglées (fig. 3, *E*). D'après tous ces caractères, cette forme conidienne correspond à *Microdiplodia*, décrite sur différentes espèces de Lonicera, à savoir : *Microdiplodia ascochytula* (Sacc.) Allesch., in *Rabenh., Kr. Fl. Deutschl.*, VII, 88, 1903; Potebnia, Mycol. Stud., in *Ann. Mycol.*, V, 17, 1907; Sacc., *Syll. Fung.*, XXII, 1002, 1913. La constatation de la présence des pycnides du type *Microdiplodia* sur le même mycélium que les périthèces, chez ces deux espèces de *Paranthostomella*, est une chose inconnue à ce genre et nous servira pour le mieux caractériser.

Winter (*Rabenh., Kr. Fl. Deutschl.*, I, 2, 562, 1885), dans une note en bas de la page, dit : « *Myriocarpa Loniceræ* (Fuckel, *loc. cit.*) ist nach dem von ihm ausgegebenen Original-Exemplaren eine typische *Sphærella* mit 2 zelligen Sporen. » Les exemplaires originaux de Fuckel, vus et étudiés par nous dans la collection du Musée d'Histoire naturelle de Vienne, correspondent à une *Paranthostomella* et les spores sont unicellulaires. Nous n'avons pas vu de spores bicellulaires. Probablement que les matériaux distribués par Fuckel dans ses *Fungi rhenani* et qui se trouvent dans diverses collections, ne sont pas toujours homogènes et identiques. C'est pour cela que Winter affirme aussi, pour *Anthostomella Cytisii* (Fuckel) Sacc., distribué dans les *Fungi rhenani*, n° 2324: « Die von Fuckel ausgegebenen Exemplare sind leider steril »; tandis que les exemplaires étudiés par

nous, sous le même numéro, sont fertiles et ont les périthèces et les ascospores arrivés à leur complète maturité. C'est pour cela encore que v. Höhnel (1) affirme, en étudiant les exemplaires de Fuckel (même numéro de *Fungi rhenani*), que *Myriocarpa Cytisii* Fuck. est en réalité le stade pas encore mûr de *Pleospora Cytisii* Fuck. et que le stade à pycnides, décrit par Fuckel comme *Psilothecium (Septoria) inumerabilis*, serait un *Cercosporella*. Il est vrai qu'on trouve sur les mêmes rameaux des périthèces de *Pleospora Cytisii* Fuck., mais il existe aussi des périthèces qui correspondent parfaitement à ce que Fuckel a nommé *Myriocarpa Cytisii* Fuck., et certainement on ne peut pas confondre un *Pleospora* avec un *Myriocarpa*. Fuckel les a très bien observés et décrits tous les deux. Nous sommes en droit de rétablir l'exactitude des données de Fuckel et de ne pas être d'accord avec v. Höhnel qui affirme, à propos de *Myriocarpa* : « Alle dise Angaben sind falsch und beruhen auf einigen groben Irrtümern u. Flüchtigkeit Fuckel's. » Les données de Fuckel sont très justes et sont confirmées non seulement par l'étude de son propre matériel, mais aussi indirectement, parce que ses descriptions coïncident avec la diagnose donnée plus tard par Spegazzini au genre *Paranthostomella*. Le *Myriocarpa Loniceræ* Fuckel est rapporté par v. Höhnel à *Sphærella Loniceræ* (Fuckel) Winter. Mais sur les matériaux étudiés par nous, nous n'avons pas vu des spores bicellulaires. Entre un *Mycosphærella* et un *Myriocarpa*, la confusion est possible quand le champignon est en état jeune (comme le sont, par exemple, les exemplaires de la collection de Fuckel). Il est possible que les spores évoluent par la suite ou vers *Mycosphærella*, en se divisant et en restant hyalines, ou vers *Myriocarpa (Paranthostomella)*, restant uni-cellulaires, mais devenant brunes. Puisque nous avons trouvé sur le même mycélium le stade pycnidien du type *Microdiplodia*, comme pour *Paranthostomella Cantacuzinoi* Săvul., nous sommes incliné d'approcher la plante de Fuckel plutôt de *Paranthostomella* que de *Mycosphærella*.

En nous basant sur l'étude microscopique d'un riche matériel de *Paranthostomella Cantacuzinoi* Săvul., sur l'étude des exemplaires authentiques de Fuckel et sur les descriptions données par différents auteurs aux différentes espèces de *Paranthostomella*, nous pouvons donner la diagnose complète et exacte du genre *Paranthostomella* Speg.

(1) V. Höhnel : Frag. Mycol. IV. Mitt., in *Sitz. Ber. d. Akad. Wissensch.*, Wien, CXVI, 1, n° 160, 1907.

Paranthostomella Spegazzini, *Fungi Chilenses*, 42, 1910 ; Sacc., *Syll. Fung.*, XXII, 1102, 1913 ; Clements a. Shear, *The gener. of Fungi*, 64, 263, 1931.

Syn. : *Myriocarpa* Fuckel, *Symbol. Mycol*, 116, tab. VI, 36, 1869 (1). *Anthostomella* Sec. « *Deciscentes* » Sacc., *Syll. Fung.*, I, 290, 1882.

Peritheciis minutis, densis, carbonaceis, cortice subepidermidem immersis, in plectenchymo laxo, brunneo, hyphis intercellularibus nidulantibus, clypeo destitutis, vertice ostiolo breve epidermidem perforante, contextu laxe et distincto celluloso, extus nigro, intus pallidiore; ascis fasciculatis, subclavatis vel cylindraceis, aparaphysatis vel paraphysatis; sporidiis mono-, di-vel tristichis, elongatis, ellipsoideis vel navicularibus, continuis vel raro appendiculatis, diu hyalinis maturis flavo-brunneis vel fuligineis fuscis.

Status conidiophorus (quod nottus) ad *Septoriam* et ad *Microdiplodiam* pertinens.

Les espèces de *Paranthostomella* connues avec certitude jusqu'à présent peuvent être groupées, d'après la présence ou l'absence des paraphyses en deux sections :

I. Sec. *Aparaphysatæ* Săvul. : peritheciis aparathysatis.

Comprend les espèces suivantes :

1° *P. Cantacuzinoi* Săvul. : status conidiophorus *Microdiplodia Cantacuzinoi* Săvul.

In cortice ramulorum exiccatorum Comandræ elegantis Rchb., Romania.

2° *P. Cytisii* (Fuckel) Săvul. : stat. conidiophor. *Septoria inumerabilis* Fuck. (?).

Syn : *Myriocarpa Cytisii* Fuckel, *Symb. mycol.*, 116, tab. VI, 36, 1869 ; *Fungi rhen.*, 1571 (!).

Anthostomella Cytisii (Fuckel) Sacc., *Syll. Fung.*, 1, 290, 1882 ; Winter, in *Rabenh., Kr. Fl. Deutschl.*, I, 2, 562, 1885.

Hab. in ramis Cytisii (Genistæ) sagittalis, Austria.

(1) Lindau, dans Engler u. Prantl, *Natürlich. Pflanzenfam.*, 1/1, 452, 1897, affirme aussi qu'il y a identité entre le genre *Myriocarpa* de Fuckel et ce que Sacc. a compris pour les espèces de sa section « *Deciscentes* » du genre *Anthostomella*.

3° *P. Loniceræ* (Fuckel) Săvul. : stat. conidiophor. *Microdiplodia ascochytula* (Sacc.) Allesch. ad interim.

Syn. : *Myriocarpa Loniceræ* Fuckel, *Symb. Mycol.*, 117, 1869.

Anthostomella Loniceræ (Fuckel) Sacc., *Syll. Fung.*, 1, 290, 1882.

Hab im ramis vivis Loniceræ alpigenæ, Jura-Helvetia.

4° *P. eryngiicola* Speg., *Fungi Chilenses*, 42, cum ic., 1910; Sacc., *Syll. Fung.*, XXII, 1, 101, 1913.

Hab. in foliis emortuis Eryngii paniculati, Chile, America.

5° *P. valdiviana* Speg., *loc. cit.*, 44, cum ic. ; Sacc., *Syll. Fung.*, XXII, 1, 102, 1913.

Hab. in foliis dejectis putrescentibus Persæ Lingue, Chile, America.

6° *P. Capparidis* Syd. et Butl., Fungi Indiæ orient., in *Ann. Mycol.*, IX, 408, 1911 ; Sacc., *Syll. Fung.*, XXIV, 2, 825, 1928.

Hab. in foliis vivis v. languidis Capparidis spinosæ var. leucophyllæ, Capparidis sp., India orientalis.

II. Sec. *Paraphysatæ* Săvul. : peritheciis paraphysatis.

7° *P. unciniicola* Speg., *loc. cit.*, cum ic. ; Sacc., *Syll. Fung.*, XXII, 1, 102, 1913.

Hab. in foliis emortuis Unciniæ erinaceæ, Chile, America.

Seulement 7 espèces peuvent être rapportées en ce moment-ci avec certitude au genre *Paranthostomella*. Il est possible qu'entre les espèces du genre *Anthostomella* se trouvent aussi des représentants du genre *Paranthostomella*, mais on ne peut et on ne doit pas faire la séparation seulement d'après les diagnoses, car il y a certainement des espèces d'*Anthostomella* auxquelles on n'a pas décrit un clypeus, quoiqu'il existe en réalité. C'est seulement une révision des matériaux originaux qui pourra nous donner la clef pour une exacte répartition des espèces entre les genres *Anthostomella* et *Paranthostomella*. Parmi les espèces d'*Anthostomella* qu'il faut revoir tout particulièrement sont celles comprises par Saccardo (*Syll. Fung.*, 1, 290-293) dans sa section « *Deciscentes* », et ensuite toutes les espèces rapportées au genre

Anthostomella et indiquées dans les différents volumes de *Syll. Fung.* (IX, p. 505 ; XI, 281 ; XIV, 501 ; XVI, 439 ; XVII, 594 ; XXII, 94; XXIV, 817), et pour lesquelles on n'a pas fait mention spéciale dans la diagnose sur la présence d'un clypeus ou d'un parastroma.

Petrak (Mycol. Notiz., in *Ann. Mycol.*, XIX, 48-49, 1921) rapporte par erreur l'*Anthostomella Corni* H. Fab. (*Sphaer. Vaucl.*, II, 39, fig. 6) à un *Paranthostomella,* car il considère les espèces d'*Anthostomella* pourvues d'un clypeus comme appartenant à *Paranthostomella* : « Für jene *Anthostomella* -Arten, welche einen Clypeus haben, hat Spegazzini, *Fungi Chil.*, p. 42 (1910), die Gattung *Paranthostomella* aufgestellt. » Et c'est justement le contraire : Spegazzini *(loc. cit.)* a séparé les espèces d'*Anthostomella* dépourvues d'un clypeus dans son genre *Paranthostomella* : « Est *Anthostomella* clypeo nigro circa ostiolum destituta. » Donc, *Anthostomella Corni* H. Fab. doit rester comme tel et ne doit pas du tout être rapporté à *Paranthostomella Corni*, comme le propose, par simple confusion de caractères, Petrak, dans le travail cité.

La structure et la forme des périthèces, ainsi que les noms semblables de ces deux champignons, pourraient faire croire qu'entre le genre *Anthostomella* et *Paranthostomella* existerait une filiation directe. Il n'en est pas du tout ainsi, car l'absence d'un pseudostroma chez le deuxième et la présence d'un pseudostroma chez le premier établit une distinction nette basée sur un caractère de haute importance morphologique et systématique. Par l'absence d'un pseudostroma, le genre *Paranthostomella* présente un caractère primitif en comparaison avec *Anthostomella,* et entre en rapport avec les genres répartis par Winter (*Rabenh., Kr. Fl. Deutschl.*, I, 2, 570, 1887) dans la famille des *Gnomonieæ,* se détachant des genres compris par le même auteur dans la famille des *Clypeosphærieæ* (Winter, *loc. cit.*, 554).

En considérant, d'accord avec Lindau (*Natürlichen Pflanzenfam.*, I, 1386), que les *Sphæriales* au périthèce superficiel *(Fimetariaceæ)* sont les plus inférieurs de la série, puisqu'ils proviennent du type des *Perisporiales* au mycélium et aux périthèces superficiels, nous trouvons, dans l'enfoncement progressif des périthèces dans le substratum et dans le développement successif d'un stroma, un déterminant évolutif, créateur de nouveaux types des *Sphæriales* de plus en plus évolués *(Valsacées, Xylariacées),* avec des périthèces confondus profondément et entourés

d'un vrai stroma bien développé et différencié. En se basant sur ce critérium d'évolution, dont la justesse et l'importance ne comportent point de doute, on doit nécessairement admettre que l'apparition d'un pseudostroma (clypeus) est un moment décisif dans l'évolution des *Sphæriales (sensu stricto,* à l'exclusion des *Pseudosphæriales* et des *Hemisphæriales).*

Parallèlement avec cette apparition d'un pseudostroma, se produisent d'autres différenciations morphologiques, les unes de haute valeur systématique, les autres de moindre importance.

Fig. 4. — *Types de Gnomoniacées et Clypéosphériacées « pseudostromatæ » à clypeus (pseudostroma) discoïdal.*

A. Clypeosphæria Notarisii Fuck. Section longitudinale dans un périthèce.
B. Anthostomella ammophila (Phill. et Plowr.) Sacc. Matériaux ex. Sydow, *Mycotheca germanica,* n° 980. Section longitudinale du périthèce.
C. Anthostomella italica Sacc. et Speg. Matériaux ex. Speaazzini. *Decades Mycol.,* n° 13. C_1 = section longitudinale dans un périthèce. C_2 = clypeus vu d'en haut. C_3 = cellules de la paroi du périthèce vues d'en face. C_4 = asque avec huit ascospores. C_5 = ascospore unicellulaire appendiculée.

Winter *(loc. cit.)* considérait les *Clypéosphaériacées* comme une famille artificielle, parce que « die Anwesenheit des Clypeus nicht constant ist. Das heisst : wir kennen (z. B. von *Anthostomella*) Arten, die unbedingt zu der gleichen Gattung gehören, mit und ohne Clypeus ». Après la séparation des genres *Paranthostomella* et *Anthostomella,* la présence et l'absence du clypeus n'apparaît plus comme un caractère fluctuant, mais comme un caractère précis et de valeur systématique.

Pour nous rendre compte de la valeur morphologique et systé-

matique du pseudostroma (clypeus), nous avons étudié cet organe chez les différents genres et espèces des *Gnomoniaceæ* et des *Clypeosphæriacæ*. Nous distinguons trois formes de clypeus, à savoir:

1° *Le clypeus discoïdal* qui couvre, sous forme de disque, la partie supérieure du périthèce et a parfois une forme parfaitement circulaire (fig. 4). C'est la forme la plus simple. On la rencontre souvent chez de différentes espèces d'*Anthostomella* (par exemple, *Anthostomella ammophila, A. italica*), chez les genres *Oxydothis, Mirrilliopeltis, Sphærognomonia*. Ce clypeus discoïdal persiste tout le temps, à l'exception de *Mirrilliopeltis Calami*, où il est rejeté à la maturité. Pour la plupart des cas, sa structure est cellulaire évidente ; comme grosseur, il varie d'une seule à 3-4 couches; il est plus mince vers les bords et plus massif vers le centre. Chez le genre *Clypeosphæria*, il est bien massif.

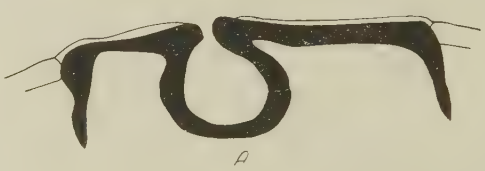


Fig. 5. — *Type de Clypéosphériacées « pseudostromatæ » à clypeus en forme de couvercle.*
A. Anthostomella phæosticta (Berk.) Sacc. Matériaux ex. Rehm, *Ascomyceten*, n° 2106.

2° *Le clypeus en forme de couvercle*, c'est-à-dire ayant les bords retroussés en bas et recouvrant le périthèce non seulement à sa partie supérieure, mais aussi latéralement sur une certaine distance (fig. 5). Comme structure, il est plus massif que le premier. Il se rencontre plus rarement et fait passage au troisième type, avec lequel il est souvent représenté chez de différentes espèces d'*Anthostomella* (par exemple, *A. phæosticta*).

3° *Le pseudostroma en forme de sphère creuse* qui entoure complètement le périthèce (fig. 6). C'est le clypeus le plus différencié, rencontré chez *Mamiania, Mamianella, Hypospila, Linospora*, différentes espèces d'*Anthostomella*. Souvent, ce type est développé et fait passage vers les stroma véritables ; mais on reconnaît toujours sa structure cellulaire, sa localisation limitée dans le substratum, le nombre réduit de périthèces qu'il contient, ainsi que la non-concrescence ou adhérence avec les parois des périthèces. La plus grande variation des types de pseudostroma

FIG. 6. — *Types de Gnomoniacées et Clypéosphériacées « pseudostromatæ » à pseudostroma sous forme de sphère creuse.*

A. Anthostomella phæosticta (Berk.) Sacc. Matériaux ex. REHM, *Ascomyceten*, n° 2106.

B. Mamiania fimbriata (Pers.) Ces. et de Not. Matériaux ex. SYDOW, *Mycotheca germanica*, n° 2348. B_1 = section longitudinale dans un groupe de périthèces, entourés par le pseudostroma. B_2 = cellules de la paroi du périthèce vues d'en face.

C. Hypospila bifrons (DC.) Sacc. Matériaux ex. VERTERGREN, *Micromycetes rariores selecti*, n° 916.

D. Linospora Capræa Fuckel. Matériaux ex. *Herb. Mus. Vindob.*, n° 9140.

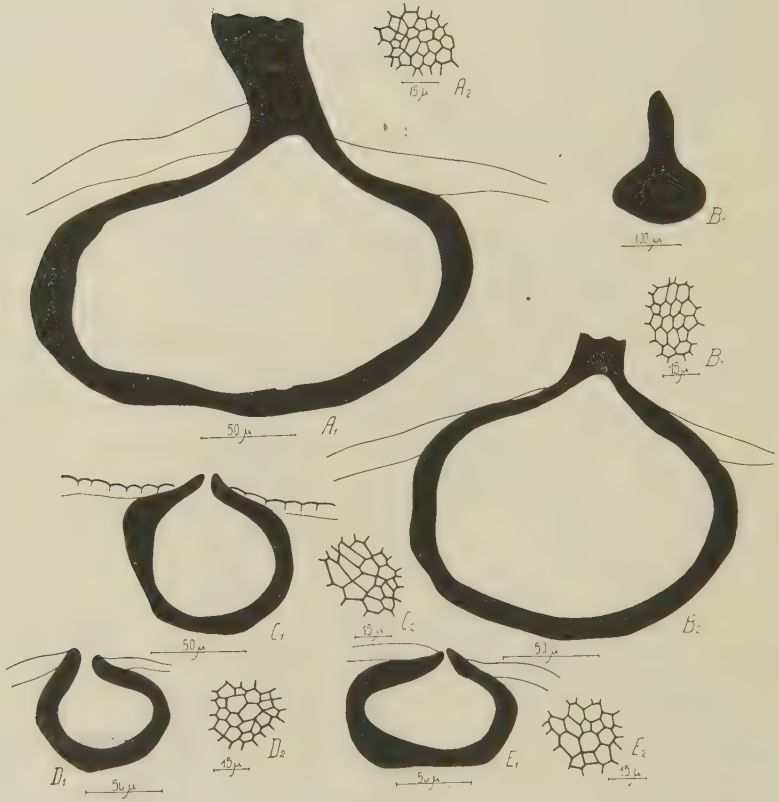


Fig. 7. — *Types de Gnomoniacées et Clypéosphériacées « apseudostromatæ ».*

A. Gnomonia acerina Starb. Matériaux ex. Vestergren, *Micromycetes rariores selecti,* n° 41. A_1 = section longitudinale dans un périthèce. A_2 = cellules de la paroi du périthèce vues d'en face.

B. Gnomoniella devexa (Desm.) Sacc. Matériaux ex. Vertergren, *Micromycetes rariores selecti,* n° 992. B_1 = périthèce détaché de la plante nourricière. B_2 = section longitudinale dans un périthèce. B_3 = cellules de la paroi du périthèce vues d'en face.

C. Paranthostomella Cantacuzinoi Săvul. Matériaux ex. *Herbarium Mycologicum Romanicum.* C_1 = section longitudinale dans un périthèce. C_2 = cellules de la paroi du périthèce vues d'en face.

D. Paranthostomella Loniceræ (Fuck.) Săvul. Matériaux ex. Fuckel, *Fungi rhenani,* n° 2323. D_1 = section longitudinale dans un périthèce. D_2 = cellules de la paroi du périthèce vues d'en face.

E. Paranthostomella Cytisii (Fuck.) Săvul. Matériaux ex. Fuckel, *Fungi rhenani,* n° 1571. E_1 = section longitudinale dans un périthèce. E_2 = cellules de la paroi du périthèce vues d'en face.

se rencontre dans le genre *Anthostomella*, qui est d'ailleurs aussi le genre le plus riche en espèces.

En considérant la présence ou l'absence de pseudostroma (clypeus) comme un caractère important dans l'évolution des *Sphæriales*, nous les divisons en deux groupes : *Apseudostromatæ* (primitifs) (fig. 7) et *Pseudostromatæ* (groupe évolué, comprenant la plupart des *Gnomoniacées, Clypéosphériacées* et même quelques genres des *Valsacées*). Les *Pseudostromatæ* font passage vers les *Sphæriales* les plus évolués qui ont un stroma véritable, les *Eustromatæ (Valsacées, Diathrypacées, Xylariacées)*.

Si, par l'apparition du pseudostroma, les *Gnomoniaceæ* et les *Clypeosphæriaceæ* subissent une transformation parallèle, il y a un autre caractère qui nous dévoile une origine différente de ces deux familles, à savoir, le contenu des périthèces, le « Nukleustypus » de v. Höhnel. D'après v. Höhnel (1), le contenu du périthèce chez les *Gnomoniaceæ* appartient au type *Diaporthe* (Diaportheentypus) et serait le caractère important sur lequel se baserait la systématique non seulement de ce qu'on réunit aux *Gnomoniaceæ*, mais aussi d'autres représentants que v. Höhnel réunit sous le nom de *Eu-Diaporthe* v. Höhnel. Ce type de contenu périthécial est caractérisé par l'absence de paraphyses ou une rapide disparition de celles-ci; par la formation des asques à des hauteurs différentes et de telle manière qu'elles remplissent complètement les périthèces; par la gélification de la base des asques au moment de la fructification, à la suite de laquelle les asques se séparent et nagent isolément dans le milieu d'inclusion des préparations microscopiques. Les asques de ce type ont un pédoncule mince et leur longueur n'est pas la même chez les différents asques du même périthèce. Les asques ont une membrane mince et un pore caractéristique à leur sommet. Il est absolument certain que les représentants des *Gnomoniacées* ont ce type d'appareil périthécial; il est bien visible, par exemple, chez *Gnomoniella, Mamiania, Mamianella, Ophiognomonia, Sphærognomonia, Oxydothis, Hypospila, Linospora, Rehmiella*.

Chez les représentants des *Clypéosphériacées* se trouve un autre type d'appareil périthécial, bien que, comme clypeus, ils correspondent parfaitement avec les *Gnomoniacées*. Ce type d'appareil périthécial, nous l'avons trouvé chez *Paranthostomella*,

(1) V. Höhnel : Syst. der Diaportheen, in *Ber. d. Deutsch. Bot. Ges.*, XXXV, 631-638 (1917), et dans d'autres travaux de cet auteur, publiés sous le titre de Mycol. Frag., in *Ann. Mycol.*, XVI, pp. 68, 92-95, 98, 101, 102 (1918), et sous le titre de Frag. z. Mycol.., in *Sitzb. K. Akad. d. Wissensch.*, Wien, XIII, Mitt. 694 (1911).

Anthostomella et *Clypeosphæria*, et il correspond à ce que v. Höhnel considère comme type des *Sphériacées*. Nous répartissons le type de l'appareil périthécial étudié par nous au type de Sphériacées de v. Höhnel (« der gewöhnlichen Sphæriaceen »), quoique v. Höhnel lui-même considère ce type comme appartenant aussi aux genres *Pleospora* et *Leptosphæria*, et ces genres n'entrent plus dans les « gewöhnliche Sphæriaceen », mais dans les *Pseudosphæriales* (1). Et les *Pseudosphæriales*, d'après ce même auteur (*loc. cit.*, p. 631), ne doivent pas être prises en considération quand on sépare les trois types de nucleus : sphériacé, dothioracé et coronophoracé. Le type mis en évidence par nous chez les genres étudiés se rapporte au type *Mycosphærella* de v. Höhnel, mais ne peut être considéré comme tel puisque,

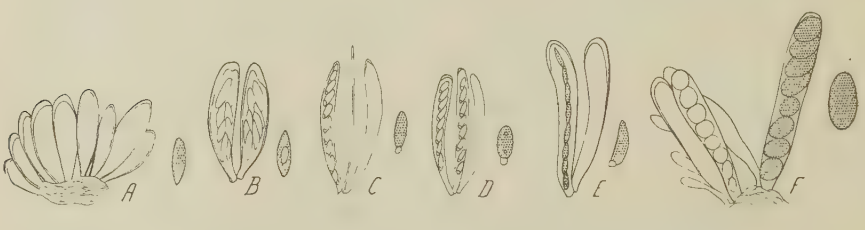


Fig. 8. — *Type sphériacé de l'appareil périthécial chez les Clypéosphériacées et les genres approchés.*

A. Paranthostomella Cantacuzinoi Săvul.
B. — *eryngiicola* Speg.
C. — *unciniicola* Speg.
D. — *valdiviana* Speg.
E. Anthostomella italica Sacc. et Speg.
F. Anthostoma Xylostei Sacc.
(*B. C. D.*, d'après Spegazzini ; *A. E. F.*, originaux.)

d'après v. Höhnel, « der von mir angegebene *Mycosphærella*-Typus muss ausgeschieden werden, da sich die betreffenden Pilze als von Dothidialer Natur herausgestellt haben ». Les variations des conceptions de v. Höhnel, sur les types séparés par lui-même, créent une confusion, et c'est seulement pour ne pas introduire une dénomination nouvelle que nous gardons le nom du type sphériacé pour l'appareil périthécial tel que nous l'avons mis en évidence chez les genres étudiés, et tel qu'il se trouve chez les vrais représentants de la famille des *Sphériacées*, des *Fimétariacées* et aussi des *Périsporiales*.

Voici comment se présentent les périthèces chez les genres

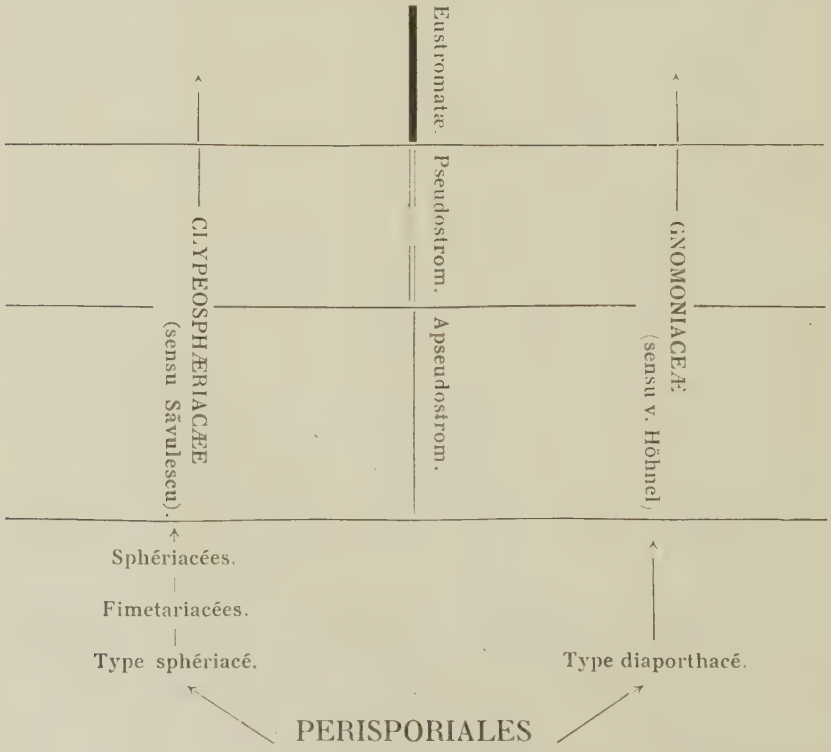
(1) Gäumann (E.) : *Vergleichende Morphologie des Pilze*, 217-227, 1926.

étudiés par nous : ils ont une paroi cellulaire, cassante et noire, constituée de 2-4 couches de cellules. A la base des périthèces se trouve un disque fertile et les asques naissent sur ce disque, tous au même niveau et ne remplissent pas complètement le creux des périthèces. Les asques (fig. 8) sont sessiles, tronqués ou arrondis au sommet, sans ou avec des paraphyses, Les paraphyses sont fines, sans contenu et généralement pas cloisonnées. Les asques sont groupés et sortent en faisceaux de l'intérieur des périthèces, ensemble avec leur disque basal. La membrane de l'asque est plus épaisse au sommet, mais tout au bout elle est quelquefois plus mince, déterminant une espèce d'aréole. Les spores sont uni- ou multi-cellulaires, rarement hyalines — *Peltosphæria vitrispora* (C. et H.) Berl. —, généralement brunes. Ce type nous rappelle parfaitement les *Perisporiales* pluriasques, à spores brunes *(Périsporiacées)* ou à spores hyalines *(Erysiphacées)*, et l'existence de ce type, chez les *Sphæriales* à clypeus *(Clypéosphériacées)*, donne une base morphologique et réelle au rapport phylogénétique présumé entre celles-ci et les *Périsporiales*. Comme les *Gnomoniacées* (à type *Diaporthe*, avec ou sans pseudostroma et à spores hyalines) passent vers les *Sphæriales Eustromatæ*, type *Diatrype* et à spores hyalines (par exemple, *Diatrypacées*, *Valsacées* p. p., *Melogrammatacées* p. p.), de même les *Clypéosphériacées*, avec leur appareil périthécial sphériacé, avec ou sans pseudostroma, à spores brunes, passent vers les *Sphæriales eustromatæ* à type sphériacé et à spores brunes ou hyalines unicellulaires ou multicellulaires. D'après nos recherches, il est sûr, par exemple, que les genres *Anthostoma* et *Melanconis* ont le même type d'appareil périthécial, bien qu'ils possèdent un stroma différent.

Le type de l'appareil périthécial sphériacé nous offre une base solide pour considérer les Périsporiales comme des ancêtres éloignés de certains Sphæriales supérieurs. Mais l'existence de deux types d'appareils périthéciaux chez deux familles très rapprochées par l'apparition d'un clypeus, donc par leur degré d'adaptation à la vie intramatricale, nous montre comment se seraient différenciées ces deux familles. D'une part, se sont différenciées les *Clypéosphériacées* directement, par l'enfoncement du mycélium et des périthèces dans le tissu de la plante nourricière, sans modifier le type de l'appareil périthécial; et, d'autre part, se sont différenciées les *Gnomoniacées* par une transformation plus lente, passant par des types intermédiaires, comme, par exemple, les *Mycosphérellacées* (avec le type d'appareil périthécial mycosphé-

rellacé de v. Höhnel) et les *Hypocréacées*, chez lesquelles Theissen et Sydow (1) ont trouvé de même le type *Diaporthe* de v. Höhnel.

Le type de l'appareil périthécial nous explique l'origine et l'évolution des *Gnomoniacées* et des *Clypéosphériacées*, et donne raison à l'existence de cette dernière famille, car elle peut être caractérisée non seulement par la présence ou l'absence de clypeus, mais aussi par le type de l'appareil périthécial qui nous conduit à de certains *Sphæriales eustromatæ* plus évolués (*Anthostoma, Melanconis*), comme le type *Diaporthe* conduit, par l'intermédiaire des *Gnomoniacées*, aux *Sphæriales eustromatæ* les plus évolués, à spores hyalines (*Diaporthaceæ, Eu-Valsaceæ*, etc.). En tenant compte du type de l'appareil périthécial chez les *Sphæriales* supérieurs, on pourrait représenter schématiquement leur origine et leur adaptation successive à la vie intramatricale par l'apparition d'un pseudotroma (clypeus) et, ensuite, par l'apparition d'un vrai stroma, comme il suit :



(1) Theissen et Sydow : Synops. Tafeln, in *Ann. Mycol.*, XV, 6, 391, 1917.

Comme nous l'avons indiqué plus haut, WINTER sépare pour la première fois les *Clypéosphériacées* des *Gnomoniacées*, en considérant comme caractère distinctif la présence du clypeus chez les premières et l'absence de cet organe chez les dernières. D'après ce que nous venons de démontrer, la différence entre ces deux familles se base sur le type différent de l'appareil périthécial, ce qui nous montre aussi leur évolution différente, tandis que la présence ou l'absence du pseudostroma (clypeus) non seulement ne sépare pas ces deux familles, mais, au contraire, détermine une convergence morphologique entre leurs genres. Ces genres, du moment de l'apparition du clypeus, ont une évolution parallèle et une possibilité nouvelle commune de créer de nouveaux types, par adaptiogénèse, jusqu'aux types les plus différenciés, pourvus d'un stroma véritable.

De même que les *Gnomoniacées* de WINTER ne correspondent plus aux *Gnomoniacées* de v. HÖHNEL *(Eu-Diaportheen)*, les *Clypéosphériacées* de WINTER ne correspondent plus par l'ensemble de leurs caractères, ni par leur position systématique à notre conception de ce groupe.

SCHRÖTER (*Kr. Fl. Schles.*, II, 386, 1897) réunit les *Gnomoniacées* et les *Clypeosphæriacées* de WINTER dans une même famille, *Gnomoniacei* Winter (erweitert). Dans la lumière de nos connaissances, cette réunion nous paraît tout à fait illégitime, surtout qu'en se basant seulement sur la présence du clypeus, SCHRÖTER considère comme *Clypéosphériacée* le genre *Mamiania*, en le séparant des *Gnomoniacées* où l'avait placé LINDAU *(loc. cit.)*, des *Valsacées* dans lesquelles l'a rapporté WINTER *(loc. cit.)*, et plus récemment THEISSEN (1), de même que des *Eu-Diaporthee* de v. HÖHNEL.

Les caractères qui marquent les étapes de l'évolution des *Clypéosphériacées* et des *Gnomoniacées* sont subordonnés comme suit :

Caractères du type primitif :	*Caractères du type évolué :*
I. Apseudostromatæ.	Pseudostromatæ.
II. Unicellulatæ (spores unicellulaires).	Multicellulatæ.
III. Octosporæ (asques à 8 ou à 4 spores).	Polysporæ (asques polyspores).
IV. Aparaphysatæ.	Paraphysatæ.
V. Hyalosporæ.	Phaeosporæ.

La forme du périthèce, la longueur de l'ostiolum, sa position (centrale ou latérale), la présence ou l'absence des appendices

(1) THEISSEN : Beitr. z. System. d. Ascomyc., in *Ann. Mycol.*, XIV, 437, 1918.

TABLEAU I

A. — Gnomoniaceæ (Eudiaporthæ v. Höhn. ex. p.).
Type diaporthe de l'appareil périthécial.

	AS	PS	UN	MC	OC	PL	AP	P	Observations
1. *Winterina* Sacc.....	+	»	+	»	+	»	+	»	Périthèces superficiels.
2. *Gnomonina* v. H...	+	»	+	»	+	»	+	»	Périthèces sans ostiolum.
3. *Gnomoniella* Sacc..	+	»	+	»	+	»	+	»	
4. *Ophiognom.* Sacc..	+	»	+	»	+	»	+	»	Spores bacillaires.
5. *Pleuroceras Riess* ..	+	»	»	+	+	»	+	»	
6. *Ditopella* de Not...	+	»	+	»	»	+	+	»	
7. *Camptosphæria* Fuck	+	»	+	»	+	»	»	+	
8. *Gnomonia* Ces. et de Not.....	+	»	»	+	+	»	+	»	Spores bicellulaires.
9. *Gnomoniopsis* Berl.	+	»	»	+	+	»	+	»	Spores tétracellulaires.
10. *Plagiostoma* Fuck.	+	»	»	+	+	»	+	»	Périthèce à ostiolum latéral.
11. *Ceriospora* Niessl...	+	»	»	+	+	»	»	+	
12. *Oxydothis* Penz. et Sacc.....	»	+	»	+	+	»	»	+	Spores multinucléées.
13. *Merilliopeltis* P. Henn.....	»	+	»	+	+	»	»	+	Spores multicellulaires.
14. *Rehmiella* Winter..	+	»	»	+	»	+	+	»	
15. *Mamianella* v. H....	»	+	+	»	+	»	+	»	
16. *Sphærognomonia* Poteb.....	»	+	+	»	+	»	»	+	
17. *Apiognomonia* v. Höhn.....	+	»	»	+	+	»	+	»	
18. *Plagiostomella* v. Höhn.....	+	»	»	+	+	»	+	»	Périthèce à ostiolum latéral.
19. *Hypospila* Fries....	»	+	»	+	+	»	+	»	Péridie charnue.
20. *Mamiania* Ces. et de Not.....	»	+	»	+	+	»	+	»	Péridie carbonacée.
21. *Linospora* Fuck....	»	+	»	+	+	»	+	»	

Signification des abréviations : AS = Apseudostromatæ ; PS = Pseudostromatæ ; UN = Unicellulatæ ; MC = Multicellulatæ ; OC = Octosporæ ; PL = Polysporæ ; AP = Aparaphysatæ ; P = Paraphysatæ.

Les genres réunis par une accolade ⎨ sont séparés en se basant sur des caractères peu importants. Les premiers deux genres sont primitifs et font passage vers les vraies *Gnomoniacées (Gnomoniella).*

aux spores, sont autant de caractères faibles, qui marquent les genres d'une façon insuffisante. Même le caractère de *Aparaphysatæ* et de *Paraphysatæ* pour quelques genres (par exemple,

TABLEAU I *(suite)*

B. — *Clypéosphériacées* (Săvul. sensu).
Type sphériacé de l'appareil périthécial.

	AS	PS	UN	MC	OC	PL	AP	P	Observations
1. *Paranthostomella* Speg	+	»	+	»	+	»	+	+	
2. *Anthostomella* Sacc.	»	+	+	»	+	»	+	+	
3. *Clypeosphæria* Fries	»	+	»	+	+	»	»	+	Allosporæ.
4. *Phæopeltosphæria* Berl	»	+	»	+	+	»	»	+	
5. *Peltosphæria* Berl.	»	+	»	+	+	»	»	+	

Anthostomella) nous donne une séparation un peu forcée. Dans le tableau I ci-dessus, nous indiquons la correspondance de ces caractères en série pour les genres de la famille des *Gnomoniacées* (*Eudiaporthee* de v. HÖHNEL, à l'exception des genres ayant un vrai stroma) et de la famille des *Clypéosphériacées* (Săvul. sensu). Nous excluons de ce tableau les genres qui, présentant l'un ou l'autre type de l'appareil périthécial, ont en même temps un stroma *(Eustromatæ)*. Nous ne voulons pas faire la classification des *Sphæriales* supérieures, mais seulement indiquer les critères exacts de leur évolution, pour servir plus tard, quand la morphologie comparée et leur développement seront étudiés à fond, comme cadre d'une classification naturelle. Pour mieux exprimer nos idées, nous considérons les *Clypéosphériacées* (sensu Săvul.) comme un stade important dans la transformation successive des *Sphæriales*, de même que les *Gnomoniacées* (*Eudiaporthee* v. Höhn.).

Dans les genres les plus évolués de la série des *Clypéosphériacées (Clypeosphæria, Phæopeltosphæria, Peltosphæria)*, nous trouvons, dans le mode de division des spores, un critérium de leur évolution : les spores divisées dans une seule direction *(homosporæ)* sont plus primitives que les spores divisées dans plusieurs directions *(allosporæ)*.

Puisque la série des *Gnomoniacées* (*Eudiaportheen* v. Höhnel p. p.) est bien caractérisée au point de vue morphologique et systématique par les études de v. HÖHNEL, THEISSEN, SYDOW, PETRAK, nous tâcherons de donner ici les caractères de la série

des *Clypéosphériacées*, en particulier ceux dont la variation représente les étapes d'évolution et dont l'importance, d'après ce que nous venons de montrer, paraît évidente.

CLYPEOSPHÆRIACEÆ Săvul, sensu; non Winter, nec Schröt.

Peritheciis submersis, apseudostromatis vel pseudostromatis, pseudostroma variabiliter evoluta, glabris, contextu cellulare, nigro, carbonaceo, ostiolo plerumque breve vix epidermide erumpens, medio vel laterale insidente, aparaphysatis vel paraphysatis; ascis octo vel polysporis; sporidiis uni vel multicellularibus, brunneis; nucleo typo *sphæriaceo*.

Les genres des *Clypéosphériacées* peuvent être systématisés en tenant compte du principe de la correspondance des caractères de tous les organes en série, ainsi que du principe de la subordination des caractères, comme on le voit dans le tableau de classification qui suit. Dans ce tableau, toutes les étapes de la différentiation n'aboutissent pas à des genres connus. Nous marquons, par un point d'interrogation (?), la place où le genre respectif n'est pas décrit, et si notre base morphologique et phylogénétique de cette série est juste, on devrait découvrir les types absents, qui prendraient leur place dans notre système, comme les éléments chimiques trouvent leur place respective dans le système de Mendelejeff.

A. Apseudostromatæ.

I. *Unicellulatæ*.

1. *Octosporæ*.
   a) *Aparaphysatæ* : g. *Paranthostomella* Sec. I.
   b) *Paraphysatæ* : g. *Paranthostomella* Sec. II.
2. *Polysporæ*.
   a) *Aparaphysatæ* ?
   b) *Paraphysatæ* ?

II. *Multicellulatæ*.

1. *Octosporæ*.
   a) *Aparaphysatæ* ?
   b) *Paraphysatæ* ?
2. *Polysporæ*.
   a) *Aparaphysatæ* ?
   b) *Paraphysatæ* ?

B. Pseudostromatæ.

I. *Unicellulatæ.*

1. *Octosporæ.*
   a) *Aparaphysatæ* : g. *Anthostomella* Sec. I.
   b) *Paraphysatæ* : g. *Anthostomella* Sec. II.
2. *Polysporæ.*
   a) *Aparaphysatæ ?*
   b) *Paraphysatæ ?*

II. *Multicellulatæ.*

1. *Octosporæ.*
   a) *Aparaphysatæ ?*
   b) *Paraphysatæ ?*
      x. *Homosporæ* : g. *Clypeosphæria* ; g. *Phæopeltosphæria.*
      xx. *Allosporæ* : g. *Peltosphæria.*
2. *Multisporæ.*
   a) *Aparaphysatæ ?*
   b) *Paraphysatæ ?*

Comme nous l'avons déjà dit, la présence et l'absence des paraphyses est un caractère très faible pour la différenciation d'un genre; par contre, les autres caractères peuvent nous servir à établir les types naturels qui ont leur place dans la série évolutive des *Clypéosphériacées* vers les *Sphæriales eustromatæ*. Encore mieux que dans le tableau de classification que nous venons de donner, on se rend compte du rapport phylogénétique des *Clypéosphériacées* dans le schéma généalogique donné à la fin de ce travail. Nous y indiquons parallèlement aussi la filiation des *Gnomoniacées.*

Dans le dernier groupe des *Sphériacées,* les *Eustromatæ,* il faudrait étudier le type de l'appareil périthécial pour la plupart des genres (v. Höhnel l'a fait déjà pour un certain nombre d'entre eux). Quand on aura les données nécessaires sur l'appareil périthécial, de même que sur la formation et le développement du stroma, on pourra construire le système de ce groupe, en rattachant ses genres aux types inférieurs.

Ce qu'on nomme aujourd'hui les *Valsacées,* les *Mélogrammatacées,* les *Xylariacées,* les *Mélanconiacées,* sont des groupements artificiels, car ils contiennent des genres qu'il faudrait, dès à présent, séparer entre les deux types de l'appareil périthécial, et on pourra distinguer aussi d'autres genres qu'il faudra rattacher à d'autres types, pas encore découverts.

Ce travail devait être imprimé *in honorem* de l'éminent biologue roumain, le Professeur I. Cantacuzino, — savant passionné pour les problèmes de l'évolution, — à l'occasion de son soixante-dixième anniversaire. Le sort a voulu qu'il soit imprimé *in memoriam* de celui qui a été le « *Princeps biologorum Romaniæ* ».

Melanconis Tul.
Anthosthoma Sacc.
Peltosphæria Ber.
Clypeosphæria Fr.
Phæopeltosperia Berl.
Anthostomella Sacc.
Anthostomella Sacc.
ALLOSP.
HOMOSP.
?
?
?
?
?
Paranthostomella Speg.
Paranthostomella Speg.
PARAPH.
APARAPH.
PARAPH.
APARAPH.
PARAPH.
APARAPH.
PARAPH.
APARAPH
POLYSPORÆ
POLYSPORÆ
OCTOSPORÆ
OCTOSPORÆ
MULTICELLULATÆ
UNICELLULATÆ
CLYPEOSPHÆRIACEÆ
TYPUS SPHÆRIACEUS
PERIS

Endothia Fr.
Calosporella Schröt.
Apioporthe v. H.
Diaporthe Nitschke.
Vialæa Sacc.
Thyridella Sacc.
Cryptovalsa Cesat. et Not.
Valsella Fuckel.
Cryptosphærella Sacc.
Glomerella S. et Sp.
Cryptospora Tul.
Cryptosporella Sacc.
Valsa Fr.
Scoptria Nitschke.
Diathripe Fr.
Mazzantia Fabre.
Cryptosporella Sacc.
Diapothopsis Fabre.
Oxydothis Penz. et Sacc.
Merrilliopeltis P. Henn.
Mamiania Ces. et de Not.
Hypospila Fr.
Linospora Fuck.
Sphærognomonia Poteb.
Mamianella v. H.
?
?
?
?
?
Rehmiella Winter.
Ceriospora Niessl.
Plagiostomella v. H.
Apiognomonia v. H.
Gnomonia Ces. et de Not.
Gnomoniopsis Berl.
Plagiostoma Fuckel.
Pleuroceras Riess.
Ditopella de Not.
Camptosphæria Fuck.
Ophiognomonia Sacc.
Gnomoniella Sacc.
APH.
APARAPH.
POLYSPORÆ
PARAPH.←APARAPH.
PARAPH.
APARAPH.
PARAPH.←APARAPH.
OCTOSPORÆ
POLYSPORÆ
OCTOSPORÆ
MULTICELLULATÆ
UNICELLULATÆ
GNOMONIACEÆ
Gnomonina v. H.
Winterina Sacc.
TYPUS DIAPORTHEUS
LES

RECHERCHES RELATIVES AUX MÉCANISMES SÉCRÉTOIRES DANS LES CELLULES.

ÉTUDE COMPARATIVE DES CELLULES GLANDULAIRES DU CANAL DÉFÉRENT CHEZ QUELQUES ISOPODES

par

V. Gh. RADU

Chef de travaux au Laboratoire de Morphologie animale de l'Université de Iassy

(Travail couronné par l'Académie Roumaine. Prix de l'Etat, « Gh. Lazar »)

INTRODUCTION

Les recherches des différents auteurs sur la cellule animale, commencées par Altmann et poursuivies par Mèves, Fauré-Frémiet, Regaud, etc., ont établi la présence constante, dans la cellule animale, des organites spéciaux qui ne se conservent dans les préparations que par des fixateurs dépourvus d'acides (surtout d'acide formique et d'acide acétique), et se colorent par la fucnsine; l'hématoxyline, le violet de cristal; sur le vivant, on les observe par réfringence et ils se colorent par le violet dahlia, le violet de gentiane, le vert janus, etc., mais non par le rouge neutre ou par le bleu de crésyle. Ce sont les mitochondries.

Les travaux de Golgi et les suivants ont mis en évidence, dans la cellule animale, par les méthodes d'imprégnation métalliques (au nitrate d'argent et à l'acide osmique), une sorte de formation ayant l'aspect de réseau, situé ordinairement au-dessus du noyau, à étroite proximité de lui. On lui a donné le nom d' « appareil de Golgi ». On n'a jamais pu observer cette formation dans des

cellules vivantes (colorées ou non), ni dans des pièces fixées et colorées. Quelques-uns ont supposé que cet appareil coïnciderait aux images négatives observées par Holmgren (les « canalicules de Holmgren »), qui occupent la même position dans la cellule que l'appareil de Golgi. Parat, en collaboration avec Painlevé et plus tard avec de nombreux rechercheurs, tend à démontrer la présence constante, dans la cellule animale, des éléments ordinairement sphérulaires, spécifiquement colorables, sur le vivant, par le rouge neutre et groupés, surtout dans les cellules des Vertébrés, dans une zone supranucléaire, à savoir à peu près dans la même zone que l'appareil réticulaire de Golgi. La totalité de ces éléments dans la cellule, qui ne sont que des vacuoles, constitue ce qu'on a appelé le « vacuome ». Celui-ci s'imprègne aussi par les sels métalliques (nitrate d'argent, acide osmique). Parat affirme que l'appareil de Golgi des auteurs n'est pas autre chose que le vacuome imprégné et plus ou moins altéré.

D'autre part, dans les cellules sexuelles, divers auteurs ont décrit la présence de corps spéciaux, visibles sur le vivant, qui ne se colorent pas ou, en tout cas, se colorent très peu par les colorants vitaux du chondriome, non colorables par le rouge neutre. Ils se conservent et se colorent bien dans les pièces traitées par les méthodes mitochondriales et s'imprègnent par les sels argentiques et osmiques. Ces corps ont été différemment dénommés par divers auteurs : « dictyosomes », par Perroncito qui les considérait, dans leur ensemble, comme l'équivalent de l'appareil de Golgi des Vertébrés; « ergastoblastes », par Voinov qui voit dans ces éléments des formations spéciales ayant des attributions importantes dans les phénomènes de sécrétion ; pour d'autres, enfin, ils sont des « lépidosomes », c'est-à-dire des éléments chondriosomiques spéciaux (Parat).

Chez les Invertébrés, ces éléments ont été observés aussi dans les cellules somatiques ; chez les Vertébrés, on ne les a pas trouvés comme tels dans les cellules somatiques, mais dans la zone supranucléaire de celles-ci on a constaté, à côté des vacuoles et même parmi elles, la présence de certains éléments chondriosomiques possédant des caractères chimiques différents du reste du chondriome, et auxquels on a donné le nom de « chondriome actif » (le reste du chondriome de la cellule constitue le chondriome ordinaire). Ils ont été homologués aux lépidosomes (dictyosomes, ergastoblastes) des cellules sexuelles (Parat et Parat). Ces éléments chondriosomiques s'imprègnent facilement par les méthodes métalliques, souvent en même temps que le vacuome,

donnant les images caractéristiques et variables de l'appareil de Golgi classique. La variabilité de ces images est encore plus marquée par le fait que les chondriosomes de la zone de Golgi s'altèrent plus ou moins pendant les manipulations techniques.

La présence constante et la valeur du chondriome est aujourd'hui presqu'en unanimité admise. La constance du vacuome dans le cytoplasme est aussi généralement admise, mais il y a encore des discussions sur sa valeur et son activité dans la cellule. Mais en ce qui concerne l'appareil de Golgi, les dictyosomes, les ergastoblastes, les lépidosomes, les controverses sont des plus accentuées dans la cytologie. Il y a quelques auteurs qui soutiennent encore l'existence réelle de l'appareil réticulaire de Golgi chez les Vertébrés, où il est distinct du vacuome, ainsi que du chondriome, ce qui aujourd'hui ne reste pas si bien démontré que l'est sa non-existence. Pour ces auteurs, l'homologue, chez les Invertébrés, de cet appareil réticulaire, est représentée par la totalité des dictyosomes de la cellule. Voinov a montré le rôle spécial des lépidosomes (dictyosomes) dans les procès de sécrétion, et il leur a donné le nom d' « ergastoblastes », sans les homologuer à l'appareil de Golgi des Vertébrés. Il les considère donc comme un constituant distinct.

D'autres auteurs, enfin, considèrent dans la cellule, tant chez les Invertébrés que chez les Vertébrés, seulement deux constituants : le chondriome et le vacuome. Pour ceux-ci, les dictyosomes (ergastoblastes) ne sont que des éléments chondriosomiques spéciaux, hypertrophiés.

En réalité, en dépit du grand nombre de travaux qu'on a publié jusqu'ici sur cette question, on n'a pu suffisamment démontrer, avec des preuves irréfutables, ni que les dictyosomes (ergastoblastes, lépidosomes) sont des formations indépendantes du chondriome, tant par leur origine que par leur nature chimique, donc une phase précisément caractérisée et individualisée dans le cytoplasme; ni que ces éléments font partie du chondriome, malgré la similitude de leurs réactions histochimiques et de leurs aspects morphologiques dans certaines phases de l'évolution de la cellule, où les dictyosomes et les mitochondries sont absolument semblables et ne peuvent pas être distingués les uns des autres. Une seule chose paraît être précisément établie : les ergastoblastes, par leur position dans le cytoplasme et par leur évolution, témoignent une activité physiologique importante qui paraît être celle de la sécrétion, tandis

que le chondriome (chondriome ordinaire) a des attributions hypothétiques et non démontrées encore.

Considérant maintenant les phénomènes sécrétoires dans la cellule et la manière dont les divers constituants contribuent à ces phénomènes, on a fait plusieurs hypothèses dont nous citerons succinctement les plus importantes.

Nassonov *(1924)* admet et soutient que les grains de sécrétion, dans les cellules glandulaires des Vertébrés, prennent naissance à l'intérieur des cordons qui constituent le réseau golgien, par l'activité directe de celui-ci. Nassonov exprime de la manière suivante le rôle de l'appareil de Golgi dans la sécrétion : « Dans les limites de la cellule, l'appareil de Golgi apparaît comme la dernière étape du processus de sécrétion, et comme la même étape apparaît la glande dans l'organisme entier. A ce point de vue, l'appareil de Golgi peut être nommé à juste raison « glande de la cellule » (Zelldrüse). » Les images données par Nassonov illustrent ce qu'il soutient; mais si les conclusions sont logiques, elles ne sont pas moins fausses ou au moins confuses, étant donné qu'elles reposent sur un édifice vicieux. En effet, l'appareil de Golgi décrit par cet auteur ne peut plus être admis aujourd'hui parce qu'il représente un complexe à la constitution duquel contribuent des parties hétérogènes du cytoplasme.

Morelle *(1925)* montre que la dénomination d'appareil réticulaire de Golgi est fausse. L'image de réseau est due à l'altération d'une zone homogène spéciale du cytoplasme qu'il appelle la « substance de Golgi » ou « tache de Golgi ». A l'intérieur de cette tache prendraient naissance les grains de sécrétion par simple séparation de phases, sans l'intervention de quelque chose de préformé. La conception de Morelle ne s'est pas encore vérifiée.

Parat *(1928)* montre que les grains de sécrétion se constituent au sein des vacuoles, organites préformés. Chaque vacuole constitue, par son contact avec le cytoplasme, une surface de séparation entre deux phases : le cytoplasme et le contenu de la vacuole. Au niveau de cette surface se produiraient des réactions physico-chimiques spéciales qui auraient comme résultat l'accumulation de substances de sécrétion dans les vacuoles. Par ce procès s'accumuleraient, expérimentalement, le rouge neutre et d'autres substances colorées. Chez les Vertébrés, les vacuoles sont groupées dans une zone spéciale du cytoplasme, plus ou moins étendue, au-dessus du noyau. Cette zone, la zone de Golgi, contient une certaine quantité de lipoïdes à répartition diffuse et un

certain nombre de filaments chondriosomiques, le chondriome actif. La réunion de ces éléments hétérogènes dans la même zone, et à proximité du noyau, constituerait un système qui concourrait à la production et à l'accumulation, dans les vacuoles, de la substance de sécrétion.

Jacobs *(1928)* trouve que, dans l'hépato-pancréas de l'écrevisse, l'appareil de Golgi non seulement concourt activement à la production des grains de sécrétion, mais plus encore, il contribue directement par sa substance même, à la production de ceux-ci. Chaque dictyosome est constitué par une substance externe (« Apparatexternum ») et par une substance interne (« Apparatinternum »). Cette dernière ne représenterait, pour Jacobs, que tout simplement le jeune grain de sécrétion qui se transforme graduellement pendant la période d'élaboration, et donne le grain de sécrétion mûr. Pendant ces transformations, la substance externe est complètement consommée et disparaît. Sur ces conclusions de Jacobs, nous reviendrons à l'occasion des discussions générales sur les résultats obtenus par nous, étant donné que le matériel que nous avons étudié présente des phénomènes du même type.

Enfin, beaucoup d'auteurs ont attribué au chondriome le rôle d'élaboration dans la cellule. Nous nous bornerons à en citer quelques-uns. Entre autres, Laguesse *(1900-1924)*, dans les cellules pancréatiques, surtout chez la salamandre, soutient que les éléments chondriosomiques donnent directement naissance aux grains de sécrétion et disparaissent au cours de ce procès. Le chondriome est ensuite régénéré par l'activité du noyau, chez la salamandre, évidemment, par l'intermédiaire et aux dépens des parasomes qui prennent naissance du noyau.

Pour Noël *(1923-1924)*, puis Noël et Mangenot *(1925)*, au contraire, comme dans les cellules végétales, les éléments chondriosomiques s'hypertrophient sous la forme de plastes, élaborent, puis se régénèrent. Ils passent donc par des phases réversibles. Ces auteurs ont tiré leurs conclusions de l'étude des cellules hépathiques des Mammifères.

Hosselet *(1930)* constate que, dans divers organes, chez les Insectes, les mitochondries jouent un rôle très important dans la formation des produits de sécrétion. Les vacuoles prennent naissance au contact des éléments chondriosomiques et, au fur et à mesure que les vacuoles se développent, les chondriosomes disparaissent. La régénération du chondriome se fait à l'aide du noyau (émissions nucléolaires). Le contenu des vacuoles ainsi

formées est constitué, d'après Hosselet, en grande partie par la substance chondriosomique modifiée.

Mme Voinov-Juga *(1929-1930)*, en étudiant l'excrétion chez les Invertébrés, trouve que, dans le tissu pigmentaire, les chondriosomes ont un rôle actif dans le phénomène d'élaboration. Elles donnent naissance aux plastes et celles-ci produisent du pigment ou l'emmagasinent. Le procès est réversible et les plastes se multiplient aux dépens du chondriome jusqu'à l'épuisement complet de celui-ci, quand le phénomène de pigmentation cesse.

D. Voinov *(1927-1929)*, à la suite de nombreuses recherches sur du matériel divers (cellules germinales de Notonecta, glandes salivaires et cellules nerveuses d'escargot), arrive à la conclusion que les phénomènes sécrétoires dans les diverses catégories cellulaires ne sont pas les mêmes et peuvent être groupés en quatre catégories, selon que le phénomène est dû : *a)* au chondriome ; *b)* au vacuome ; *c)* aux ergastoblastes, ou *d)* à l'association des ergastoblastes + vacuome. Pour le premier cas, il cite les exemples que nous avons énumérés aussi ci-dessus ; pour le second, l'étude de Parat et Painlevé sur les glandes salivaires du chironome; pour le troisième, ses propres études sur les glandes salivaires et les cellules nerveuses de l'escargot; le quatrième, enfin, est réalisé dans les cellules germinales de Notonecta (Voinov, *1927*), où les ergastoblastes sont intimement associés aux vacuoles.

Nous avons donné ici quelques exemples pour mieux illustrer les conceptions générales sur les mécanismes sécrétoires des cellules. Nous ne pouvons pas insister davantage sur cette revision, parce qu'il serait impossible de passer en revue, dans ce court travail, l'énorme quantité de travaux qu'on en a écrits jusqu'ici. Mais, toujours, on a discuté ce que devient l'élément élaborateur pendant et après la sécrétion, et de quelle manière il se régénère s'il s'est usé de façon irréparable.

*
**

Le canal déférent des Isopodes possède de très grandes cellules, dans le cytoplasme desquelles on peut observer trois catégories de formations : le chondriome, les dictyosomes (ergastoblastes, lépidosomes) et le vacuome. Les dictyosomes ayant des dimensions considérables et une évolution frappante pendant le cycle évolutif de la cellule-évolution que nous avons décrit dans une note antérieure *(1930)*, — nous avons pensé qu'il ne serait pas

sans intérêt de reprendre cette étude et de rechercher quelles sont les relations possibles entre ces corps et les phénomènes de sécrétion, très active dans ces cellules. Ces relations, bien qu'elles eussent été observées depuis longtemps, n'ont pas été enregistrées dans la note mentionnée pour nous laisser le temps de les étudier le mieux possible. Pour plus de précision et d'explication, nous avons cru qu'il serait nécessaire d'étudier comparativement les aspects cytologiques en question, chez plusieurs espèces d'Isopodes, ce que nous avons cherché de réaliser, autant que possible, dans la présente étude.

MATÉRIEL ET TECHNIQUE

Nos recherches portent sur trois espèces d'Isopodes les plus communes, à savoir : *Armadillidium vulgare* Latr., *Porcellio (Cylisticus) convexus* de Geer, et une autre espèce du genre Porcellio qui, d'après les caractères indiqués par Rémy Perrier dans sa « Faune de France » *(1929)*, correspondrait au Porcellio pictus. Il s'en distingue toutefois par le fait que le lobe médian du front est un peu plus arqué, et par sa coloration grise avec des taches jaunes et non en jaune tacheté de gris. Nous l'indiquerons sous le nom de Porcellio pictus, en ajoutant toujours un point d'interrogation, donc *Porcellio pictus* (?) Brdt.

Dans la note mentionnée plus haut, nous avons montré que, d'après sa conformation extérieure, le canal déférent de l'Armadillidium vulgare se divise en deux segments : un distal réniforme, dans lequel débouchent les follicules testiculaires et un proximal, fusiforme qui est la continuation du premier et qui va s'ouvrir à l'extérieur. L'épithélium glandulaire qui tapisse l'intérieur de ces segments présente des aspects structuraux différents, d'après le segment considéré. Dans le segment postérieur, fusiforme, toutes les cellules d'une région quelconque présentent le même aspect structural. Les aspects peuvent varier d'une région à l'autre, mais pas de cellule à cellule. Entre les aspects structuraux extrêmes, on en trouve des intermédiaires. Dans le segment antérieur, réniforme, on trouve au contraire, dans la même région, des cellules dont les aspects sont très différents. Dans ce segment, la structure varie d'une cellule à l'autre, sans ordre apparent, de grandes cellules faisant saillie dans la lumière du canal entre des cellules très basses, ce qui donne à l'épithélium un aspect très caractéristique. Grâce à cet asynchronisme évolutif des cellules, on peut trouver relativement faciles tous les

stades du cycle évolutif de l'activité cellulaire. D'après l'aspect des cellules, ce cycle peut être divisé en deux phases : une progressive pendant laquelle les cellules s'accroissent progressivement en commençant par l'aspect de cellule basse, prismatique ou pyramidale, jusqu'à celui de cellule énorme qui proémine dans la cavité du canal par une surface hémisphérique, recouverte par une bordure en brosse ; et une phase régressive pendant laquelle la cellule revient au stade initial, en passant par divers aspects structuraux.

Nous décrirons, dans ce qui suit, pour chacune des espèces citées plus haut, les divers aspects cytologiques des cellules du canal déférent, dans ces deux phases de leur cycle évolutif. Tout ce que nous dirons se référera aux cellules du segment réniforme, distal.

Chez *Porcellio pictus* (?), parmi les cellules basses qui sont ordinairement dans des stades évolutifs différents, on en trouve quelques-unes dont le cytoplasme est clair et plus ou moins homogène, c'est-à-dire dépourvu de vacuolisations. Leur noyau présente un contour irrégulier et contient des blocs chromatiques relativement peu nombreux si on les compare aux noyaux des cellules très développées. Ces blocs ont des dimensions variables et sont dispersés irrégulièrement dans l'intérieur clair du noyau. Les nucléoles sont rares. L'aspect de ces cellules peut être considéré comme le début de leur cycle évolutif (fig. 5). Par les méthodes mitochondriales, on peut mettre en évidence, dans leur cytoplasme, un certain nombre de corps présentant l'aspect classique des dictyosomes, c'est-à-dire constitués d'un filament très colorable par la fuchsine, le violet de cristal, l'hématoxyline, recourbés, le plus souvent, sous la forme de croissant ou en fer à cheval, et d'une substance un peu plus colorable que le cytoplasme, mais beaucoup moins que le filament, située dans la concavité de celui-ci. D'après la nomenclature de Hirschler *(1918)*, ces corps sont donc constitués par un « Apparathüle » (« Apparat externum ») et par un « Apparatinhalt » (« Apparat-internum »).

Il est à remarquer que, dans la constitution de chaque dictyosome, on voit presque toujours plusieurs filaments (2-5, même plusieurs), entourant la substance interne : c'est rarement que le filament soit unique. Aussi, les dimensions de ces dictyosomes sont très variables; mais tandis qu'ils ne peuvent pas dépasser certaines limites de grandeur, ils peuvent être réduits jusqu'à l'aspect de petites granulations. Leur répartition dans le cytoplasme est généralement uniforme.

A côté des dictyosomes, on observe aussi, dans le cytoplasme, des filaments et des granulations beaucoup plus fins que les dictyosomes et un peu moins colorables. Ces éléments sont quelquefois en très grande quantité et sont répartis surtout dans la région infranucléaire et les parties latérales de la cellule, en diminuant en quantité et en dimensions vers la partie supranucléaire. L'abondance de ce matériel (filaments et granulations fins) cytoplasmique est caractéristique dans la période de développement des cellules. Nous rappelons qu'entre autres, Lutz *(1922)* et Jacobs *(1928)* ont remarqué la présence d'un tel matériel dans les cellules glandulaires au début de leur cycle sécrétoire. Le premier, dans l'hépato-pancréas de *Planorbis*, le décrit sous la forme de fibrilles basophiles dont le rôle essentiel serait l'élaboration, tandis que les mitochondries ne seraient que des formations transitoires. Le second, dans l'hépato-pancréas de l'écrevisse, fait des observations analogues : les fibrilles basophiles (l'ergastoplasme des auteurs) apparaissent en grande quantité dans la phase la plus active des cellules, mais elles ne donnent pas naissance aux grains de sécrétion : ceux-ci sont produits par l'appareil de Golgi. Dans notre matériel, nous les considérons comme des mitochondries et nous verrons, plus loin, leur rôle probable dans la cellule.

Quand les cellules sont arrivées au maximum de leur développement, elles sont grosses et proéminent, comme nous l'avons dit plus haut, dans la cavité du canal déférent, par une surface hémisphérique. Leur cytoplasme est dense (fig. 1), homogène, très bien fixé et dépourvu de vacuolisations, sauf dans la région apicale de la cellule, qui est quelquefois très colorable par les méthodes mitochondriales et contient quelques espaces clairs, vacuolaires. Leur noyau est assez gros, approximativement sphérique, rempli de grains chromatiques bien colorables, parmi lesquels on voit de nombreux nucléoles fuschsinophiles.

Dans le cytoplasme de ces cellules, on peut mettre en évidence, par les techniques mitochondriales, un grand nombre de corps dictyosomiques de dimensions variables (fig. 1), ordinairement assez gros. Leur constitution est simple : le filament chromophile en forme de croissant ou en fer à cheval, dont les bouts sont presque toujours effilés, et la substance interne quelquefois plus colorable que le cytoplasme (fig. 1 et 2). Au point de vue de la répartition, ils sont un peu plus nombreux vers la base de la cellule. Les caractères essentiels de ces dictyosomes, en dehors de ceux indiqués par les techniques mitochondriales et que nous

avons cités plus haut, sont : ils s'observent facilement sur le vivant, grâce à leur réfringence plus forte que celle du cytoplasme ; se colorent très difficilement par les colorants vitaux, — un peu plus facilement par le violet dahlia, — le plus souvent, restent incolores; ils s'imprègnent facilement par les méthodes d'imprégnation métalliques de l'appareil de Golgi. Il est à remar-

Fig. I. — *Cylisticus convexus*. La base d'une grande cellule dans la période d'élaboration. Le chondriome ordinaire très abondant sous la forme de filaments irréguliers, quelquefois anastomosés. *(Benoit (B. O. S. U.); col. Volkonsky; optique : Fl. 100; ocul. comp. 15.)*

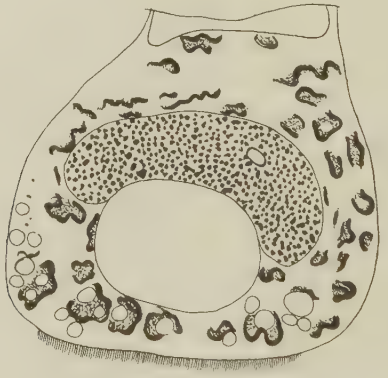


Fig. II. — *Cylisticus convexus*. Grande cellule. Les vacuoles prennent naissance dans la concavité des ergastoblastes ou à côté d'eux. On voit la grosse vacuole supranucléaire. *(Flemm.-Benda; col. Volkonsky; optique: Fl. 100; ocul. 10.)*

quer qu'ils s'imprègnent beaucoup plus facilement par les techniques osmiques que par les techniques argentiques, et plus facilement dans ce stade que dans les stades précédents, ce qui indique une forte quantité de substances lipoïdes dans leur constitution, substances qu'ils ont acquises pendant l'évolution de la cellule. Au point de vue morphologique, il est aussi à remarquer que le filament chromophile est toujours ou presque toujours

simple (fig. 1 et 2), c'est-à-dire qu'il ne présente pas les aspects de clivage longitudinaux (aspects myéliniques), tels que nous les verrons chez les espèces suivantes.

Le fait que la substance chromophobe (interne) de ces dictyosomes n'est pas toujours évidente, mais seulement dans certains stades, ce qui indique une structure fonctionnelle temporaire, et surtout le fait que, — nous le verrons plus loin, — ces éléments présentent des relations très intimes avec la production des substances de sécrétion, relations observées et précisées aussi par d'autres auteurs (Voinov, Jacobs, Beams, etc.), nous font préférer et utiliser dorénavant le terme spécial donné par D. Voinov *(1928)* à ces organites, à savoir le terme d' « *ergastoblastes* ». Tant qu'on ne connaissait pas le rôle de ces organites dans la cellule, il était prudent de leur donner une dénomination qui ne visait que leurs aspects morphologiques; mais au moment où on connaît leur rôle physiologique, il est logique de leur donner une dénomination au sens de leur fonction, d'autant plus que leurs forme et constitution varient d'un stade à l'autre. Pour que la notion soit précise, — étant donné que, par les diverses méthodes de coloration et d'imprégnation, on peut mettre en évidence, dans la cellule, des formations similaires, mais d'autre nature (vacuoles partiellement imprégnées), — nous spécifions que, d'après notre opinion, *ne peuvent être considérées comme ergastoblastes que ces formations de la cellule animale qui, présentant les caractères histo-chimiques indiqués plus haut, doivent être visibles sur le vivant sans coloration, grâce à leur réfringence.* C'est sous ces aspects qu'ils ont été observés, par D. Voinov *(1927)*, chez *Notonecta.*

Parmi ces gros ergastoblastes qui donnent un aspect caractéristique aux cellules dans ce stade, on peut observer la présence simultanée d'éléments très fins sous la forme de granulations, bâtonnets et filaments très courts. Les filaments et les bâtonnets sont plus abondants et un peu plus longs vers la base de la cellule (fig. 5). La finesse de ces éléments offre un contraste assez remarquable par rapport à la vigourosité des ergastoblastes. Nous les considérons comme représentant le chondriome.

Pour plus de clarté, nous laisserons de côté, pour le moment, la question des rapports génétiques possibles entre les cellules basses décrites plus haut et les cellules complètement développées. Nous nous bornerons à dire qu'entre ces deux aspects extrêmes existe une série complète de stades de pasage dans laquelle on observe la croissance, la multiplication et le dévelop-

pement des ergastoblastes. Dans toute cette série, on ne peut rien observer sur les aspects morphologiques de la constitution des grains de sécrétion.

Les procès morphologiques de la sécrétion. — Dans certaines des grandes cellules, on observe que la partie interne des ergastoblastes devient plus colorable que dans d'autrs cellules, et en même temps elle n'est plus complètement homogène ni séparée du cytoplasme par une limite précise (fig. 2; *a, b, c*). Dans d'autres cellules, l'espace compris dans la concavité des ergastoblastes devient plus clair et la substance qui s'y trouve est encore moins homogène, ayant l'aspect d'un précipité bien colorable (fig. 1 et 2; *d, e*). Dans d'autres cellules, enfin, dans la concavité de chaque ergastoblaste, on trouve une vacuole plus claire, bien contourée, dans laquelle on trouve une certaine quantité de précipité moins colorable qu'au début de la formation de la vacuole (fig. 2, *f*). Pendant ce temps, les ergastoblastes subissent une diminution de volume et deviennent plus courts et plus minces. Dans des pièces fixées par la méthode de Regaud, on voit que les ergastoblastes sont presque toujours, dans ce stade, à l'intérieur des vacuoles (fig. 2, *f*), ce qui ne s'observe pas après d'autres fixations. Ces images sont, certainement, un peu artificielles, mais elles nous montrent les rapports entre les ergastoblastes et les vacuoles, en indiquant que celles-ci sont intimement accolées aux ergastoblastes; par suite, ces derniers peuvent passer, sous l'influence d'une force osmotique anormale, à l'intérieur des vacuoles quand les dimensions de celles-ci le permettent.

Dans beaucoup d'endroits, on observe que les vacuoles sont devenues libres par la disparition complète de l'ergastoblaste générateur. Quelquefois, le fragment d'ergastoblaste accolé à la vacuole dégénère sous la forme de vésicules faiblement fuchsinophiles qui passent à l'intérieur de la vacuole. Le fait généralement observé est que *toute vacuole a son origine dans la substance interne d'un ergastoblaste, que la substance externe de celui-ci diminue au fur et à mesure que la vacuole augmente, et qu'enfin la vacuole devient libre par la disparition complète de l'ergastoblaste qui lui a donné naissance.*

Pendant ces procès, des granulations de nature mitochondriale apparaissent dans le cytoplasme, plus petites que les plus petits ergastoblastes, mais plus grosses que les granulations mitochondriales ordinaires. Ces granulations se trouvent généralement autour des vacuoles et, dans les endroits où elles sont plus abondantes, les ergastoblastes n'existent plus.

Le stade qui suit cette évolution des grosses cellules nous est représenté par la cellule indiquée dans la figure 4. C'est une cellule tronquée, prismatique, avec un gros noyau faiblement chromatique, à contour irrégulier. Ce qui caractérise cette cellule, c'est la présence, dans son cytoplasme, d'une énorme quantité de grains de sécrétion et d'un grand nombre de vacuoles qui donnent au cytoplasme un aspect alvéolaire. On observe que chacun de ces grains se trouve toujours à l'intérieur d'une vacuole (entouré d'un espace clair). Ils sont bien constitués vers le bord apical de la cellule, tandis que, vers les parties latérales et basales de celle-ci, les vacuoles sont complètement claires. Entre ces deux zones du cytoplasme, — à grains et à vacuoles claires, — on observe une zone de transition dans laquelle les vacuoles contiennent une quantité de précipité plus ou moins abondant et plus ou moins dense, selon qu'elles se trouvent vers la partie à grains ou vers la partie alvéolaire de la cellule. Cela nous indique clairement que, dans les vacuoles, la substance élaborée est plus ou moins dissoute, et que cette substance est précipitée et condensée sous la forme de grains de sécrétion au fur et à mesure qu'elle s'approche du pôle excréteur de la cellule.

Parmi les grains de sécrétion et les vacuoles, on observe, par-ci par-là, de rares ergastoblastes dont la structure paraît en quelque sorte modifiée. Leur substance interne (leur concavité) apparaît assez colorable, mais le filament externe est très mince, à trajet irrégulier, même variqueux. Beaucoup d'entre eux sont granulisés, ayant l'aspect de petits amas de granulations dans une masse plus dense que le cytoplasme. Ce phénomène de granulisation s'observe mieux vers la base de la cellule, où les ergastoblastes sont plus nombreux.

Il n'est pas difficile à comprendre que la cellule ainsi décrite dérive des grandes cellules que nous avons décrites plus haut, ce qui se fait par l'apparition des grains de sécrétion au sein des vacuoles qui ont pris naissance dans la concavité des ergastoblastes, et par la disparition, — au moins morphologique, — de la plupart de ceux-ci.

Quel est le sort des ergastoblastes dans le phénomène de la production des grains de sécrétion ? Pour le moment, nous notons seulement le fait que leur nombre a diminué énormément pendant ce temps et que, dans beaucoup de places où il y a des vacuoles en grand nombre, ils sont complètement disparus, sans qu'on ait pu observer, bien entendu, des images morphologiques

de la transformation de leur substance. Après que nous aurons étudié ce phénomène aussi chez les deux autres espèces citées, nous insisterons d'un peu plus près sur son interprétation.

La persistance et la granulisation des ergastoblastes, surtout de ceux qui se trouvent vers la base de la cellule, n'indique pas un phénomène de dégénérescence, mais au contraire un signe de reviviscence, de multiplication. (Nous faisons distinction entre le phénomène de granulisation des ergastoblastes pendant l'apparition du précipité dans les vacuoles nouvellement formées, — dans les grandes cellules, — granulations qui disparaissent graduellement, et le phénomène de granulisation que nous observons dans cette dernière période.)

Au fur et à mesure que les grains de sécrétion sont éliminés, la cellule refait son cytoplasme par sa base et le noyau recouvre sa chromaticité. Quelques-uns des ergastoblastes restés dans la portion apicale de la cellule, pendant la disparition des grains de sécrétion, donnent naissance, à leur tour, à des grains de sécrétion, ce qui explique la présence de tels grains dans les cellules, même dans une période assez avancée de leur reconstitution.

L'élimination des grains de sécrétion et la reconstitution des cellules sont deux phénomènes qui se passent partiellement en même temps parce que, comme nous l'avons encore dit, pendant que les grains sont expulsés, la cellule se refait par sa région infranucléaire. Nous avons montré, dans une note précédente, de quelle manière les grains de sécrétion sont éliminés de la cellule : ils ne sont pas rejetés comme tels dans la lumière du canal déférent, mais ils se désagrègent préalablement en petites granulations qui peuvent passer à travers la bordure en brosse de la cellule. Celle-ci ne se détruit jamais; mais, pendant qu'elle est traversée par les substances de sécrétion, elle apparaît comme une zone d'aspect spécial (fond clair, — diversement coloré, suivant les méthodes employées, — parsemé de fines granulations), à cause des gros grains qui se trouvent d'un et de l'autre de ses côtés et à cause des petits grains qui masquent ses cils.

La régénération du corps cellulaire et de sa structure interne commence avant l'évacuation complète de son matériel sécrété, et surtout avant la disparition du cytoplasme, de toutes les vacuoles, disparition qui s'accomplit très lentement. En effet, on peut observer que beaucoup de temps après que la cellule a recommencé son accroissement et que les ergastoblastes deviennent plus vigoureux, de grandes zones de cytoplasme alvéolisé

persistent au-dessus du noyau. La figure 3 nous montre une cellule qui a fini son cycle sécrétoire (la coupe est un peu oblique). Le cytoplasme est fortement alvéolisé encore, le noyau pauvre en chromatine, la plupart des ergastoblastes sont petits et presque rectilignes, peu d'entre eux sont recourbés en fer à cheval; il y en a beaucoup qui sont granulaires. On ne voit pas de chondriome ordinaire; on en aperçoit quelque chose, mais si faiblement colorable qu'on ne peut pas se faire une conviction positive.

A partir du stade indiqué dans cette figure commence l'accroissement de la cellule pendant lequel, parmi les ergastoblastes qui se divisent activement, on revoit en grande quantité le chondriome ordinaire, tel qu'il est représenté dans la figure 5. Du stade indiqué dans cette dernière figure jusqu'aux cellules complètement développées, les images de passage sont facilement à représenter : les ergastoblastes se multiplient, s'accroissent et deviennent plus vigoureux en recouvrant ainsi leur état de développement complet. Le corps cytoplasmique, et par suite la cellule elle-même, augmente et devient plus dense et plus homogène; la quantité de mitochondries ordinaires diminue au fur et à mesure que la cellule se développe ; le noyau devient plus riche en grains de chromatine et recouvre son contour plus ou moins régulier.

Dans les cellules qui reprennent leur accroissement, on observe assez fréquemment des images de division amitotique du noyau, ce qui nous indique que si la plupart des cellules glandulaires du canal déférent persistent après leur cycle élaborateur, il y en a quelques-unes qui dégénèrent et sont remplacées par la division des autres.

En résumé, les cellules glandulaires du canal déférent de *Porcellio pictus* (?) passent par des cycles sécrétoires bien marqués, dont les résultats finaux sont la production de grains de sécrétion qui sont rejetés dans la lumière du canal. Pendant chaque cycle sécrétoire, on voit que, d'un côté, la cellule, épuisée par suite de l'activité du cycle précédent, se refait, c'est-à-dire son cytoplasme augmente, les ergastoblastes se multiplient par la division d'un certain nombre d'ergastoblastes qui n'ont pas contribué à la sécrétion pendant le cycle qui vient d'être terminé et s'accroissent; d'autre côté, on voit que, dans la concavité de chaque ergastoblaste, prend naissance une vacuole dans laquelle se dépose la substance élaborée qui apparaît sous la forme de précipité, et au fur et à mesure que les vacuoles agrandissent, les ergastoblastes diminuent de volume et disparaissent, sauf

quelques-uns qui persistent dans le cytoplasme sans avoir produit des vacuoles. Ceux-ci sont l'origine de la nouvelle génération d'ergastoblastes. Puis, dans chaque vacuole se constitue un grain de sécrétion qui est éliminé dans la lumière du canal déférent après désagrégation préalable en granulations fines.

Chez Armadillidium vulgare. — Le cytoplasme des grandes cellules se présente comme chez l'espèce précédente, homogène, dense et bien colorable. A un certain stade de leur évolution, elles ne possèdent pas de vacuolisations. Les ergastoblastes sont aussi nombreux que chez l'espèce précédente, de dimensions variables et répartis à peu près uniformément dans le cytoplasme. Leur structure, au contraire, présente des aspects caractéristiques. Tout d'abord, leur filament externe est un peu plus mince et plus recourbé que chez *Porcellio pictus* (?), la plupart d'entre eux ayant l'aspect d'anneau fermé ou presque fermé, ou de spirale. Puis, tandis que, chez l'espèce précédente, le filament externe est simple, chez l'*Armadillidium vulgare* la partie externe est multiple, constituéee par deux ou plusieurs filaments accolés l'un à l'autre concentriquement, donnant ainsi des images myéliniques semblables à celles de certains parasomes ou des noyaux vitellins. Cette structure est très manifeste, surtout dans certains stades, indiquant un procès actif de multiplication par division, comme on peut facilement s'en convaincre en regardant la figure 6. On ne voit des filaments externes simples que chez les petits ergastoblastes.

Parmi les ergastoblastes, on voit aussi du chondriome ordinaire constitué par des granulations, des bâtonnets et des filaments un peu plus longs que chez *Porcellio pictus* (?). Ce chondriome se trouve en quantité relativement réduite dans la région supranucléaire des cellules; au contraire, il est très abondant vers leur région basale (fig. 6).

Les aspects morphologiques de la sécrétion. — Quelquefois, on peut observer l'apparition de vacuoles dans la concavité des ergastoblastes. Le premier indice de ce phénomène, dans des pièces fixées, est la légère colorabilité en azur, — par la méthode de coloration de Volkonsky, — de la substance interne, tandis que l'autre partie de l'ergastoblaste est fortement colorée par la fuchsine (fig. 15). Petit à petit, la colorabilité de cette substance augmente jusqu'à ce que, bien colorée en azur, elle est enfin isolée sous la forme d'un précipité floconneux dans un espace clair situé dans la concavité de l'ergastoblaste, espace qui n'est pas autre chose qu'une vacuole (fig. 15). Quelquefois, dans des

pièces fixées, ce précipité est dissous et les vacuoles apparaissent claires et incolores.

Cependant, le plus souvent, on ne peut pas observer ces relations si intimes entre les vacuoles et les ergastoblastes. Celles-ci peuvent apparaître dans le cytoplasme, à côté des ergastoblastes et non obligatoirement dans leur concavité, mais toujours sous les mêmes aspects d'une substance plus ou moins colorée en azur. Quel que soit le mode d'apparition des vacuoles, le sort des ergastoblastes est toujours le même : au fur et à mesure que les vacuoles s'accroissent et que la quantité de précipité augmente, les ergastoblastes se fragmentent en petites granulations et sphérules fuchsinophiles qui ne tardent pas à disparaître; ou ils perdent de la netteté de leur contour, leur forme et deviennent comme une masse informe, faiblement fuchsinophile, à côté de la vacuole. En même temps, leurs dimensions diminuent, leur colorabilité s'efface, petit à petit, jusqu'à ce qu'enfin ils disparaissent (fig. 16 et 17). Le résultat final est le même que chez *Porcellio pictus* (?), c'est-à-dire qu'à la fin les vacuoles restent libres et seules dans le cytoplasme par la disparition des ergastoblastes qui les avaient accompagnées dans leur développement.

Assez souvent, on observe une variante des phénomènes décrits plus haut. Au niveau des ergastoblastes, dans leur concavité ou sur leur filament externe, il apparaît de petites granulations très colorables — par la coloration de Volkonsky, elles apparaissent en bleu noir sur le fond rouge des ergastoblastes — qui s'entourent, *in situ*, chacune d'un espace clair (fig. 16). A mesure que l'ergastoblaste supporte plus de ces granulations, d'autant sa forme s'altère et sa colorabilité diminue. Par endroit, à côté d'un ergastoblaste dans cet état, on voit une vacuole plus ou moins grosse qui contient un certain nombre de telles granulations, chacune au milieu d'une vésicule faiblement fuchsinophile ou même incolore. Enfin, on voit beaucoup de ces grosses vacuoles qui n'ont aucun rapport de voisinage avec les ergastoblastes. Dans certaines vacuoles, on voit aussi, à côté des vésicules décrites, une quantité quelconque de précipité, et dans d'autres, on ne voit que du précipité azurophile. Toutes ces images nous indiquent l'intervention réelle des ergastoblastes dans le phénomène de sécrétion, pendant et à cause duquel ils s'usent et disparaissent.

Dans la zone sous-nucléaire, les vacuoles, beaucoup agrandies, peuvent se fusionner les unes aux autres, donnant ainsi naissance, sous le noyau, à de grosses vacuoles qui poussent celui-ci

et le déforment par la formation d'une concavité dans sa partie inférieure. Ce phénomène, très fréquent chez *Armadillidium vulgare,* nous ne l'avons pas observé chez *Porcellio pictus* (?).

La substance sécrétée subit, chez cette espèce, la même évolution que chez *Porcellio pictus* (?); à savoir, elle se condense en grains de sécrétion qui sont rejetés dans la lumière du tube après leur granulisation préalable. Pendant ce temps, la cellule diminue de hauteur, diminue généralement en dimensions et les ergastoblastes disparaissent graduellement. Cette disparition est due, en premier lieu, comme nous l'avons vu, à cause de leur usure pendant la sécrétion, et puis à cause des divisions répétées de ceux qui sont restés non utilisés pendant l'élaboration. Par suite de ces divisions, ils deviennent très petits, ayant l'aspect de chondriome ordinaire : grains, bâtonnets et filaments.

Quand la cellule a atteint son plus bas degré de réduction, elle se compose d'une petite masse de cytoplasme non vacuolisé, resté dans un petit coin à la base de ce qui était la grande cellule, englobant le noyau ratatiné et pauvre en chromatine, et d'une immense masse de cytoplasme extrêmement vacuolisé, d'aspect spongieux, dans laquelle on distingue des grains de sécrétion et des vacuoles claires incolores.

La reconstitution des cellules peut être facilement déduite si on considère les figures 7, 8, 9 et 10. Dans la figure 7, on peut voir que la cellule qu'elle représente possède un corps très réduit, ainsi que le noyau qui a un contour irrégulier et est pauvre en chromatine. Le cytoplasme contient quelques petites vacuoles et une quantité quelconque de mitochondries granulaires qui sont plus abondantes dans la région infranucléaire de la cellule. Parmi ces granulations, on observe un certain nombre (généralement restreint), de petits corps naviculaires qui, eux aussi, comme les mitochondries, sont plus nombreux vers la base de la cellule. Ces corps se distinguent du chondriome granulaire tant par leur forme et dimensions que par leur colorabilité : ils sont très faiblement colorables par la fuchsine, apparaissant dans le cytoplasme comme des ombres de couleur rose brun. Nous insistons spécialement sur la distinction de ces corps dans ce stade de l'évolution de la cellule. Dans des pièces colorées par l'hématoxyline, les mitochondries, ainsi que ces corps naviculaires qui ne sont que les futurs ergastoblastes, se colorent avec la même intensité, ce qui pourrait permettre de dire que, dans ce stade, le chondriome est constitué par des granulations et des bâtonnets.

La figure 8 représente un stade un peu plus avancé. Le chon-

driome, sous la forme de granulations, est devenu beaucoup plus abondant et n'est pas uniformément réparti dans le cytoplasme, mais en amas plus ou moins compacts. Les corps naviculaires (ergastoblastes) sont plus abondants, généralement plus gros et en même temps bien colorables, aussi colorables que le chondriome granulaire. On observe aussi des modifications de leur forme, car la plupart sont recourbés en croissant et possèdent une faible trace de substance interne dans leur concavité. En général, la cellule est beaucoup agrandie par rapport au stade précédent; cependant, on voit encore, au pôle apical de la cellule, beaucoup de vacuoles qui sont restées là du cycle sécrétoire précédent.

Dans la figure 9, il est à remarquer l'extraordinaire abondance du matériel chondriosomique granulaire, surtout dans la région infranucléaire de la cellule. Les ergastoblastes se sont beaucoup accrus, sont plus recourbés et leur substance interne plus évidente. Il est intéressant à noter que les granulations mitochondriales sont assez abondantes, aussi, dans la région supranucléaire de la cellule, et on peut constater qu'elles constituent des amas autour des ergastoblastes. Là où il y a davantage d'ergastoblastes, les granulations mitochondriales sont aussi plus nombreuses.

Enfin, nous avons encore à examiner le stade indiqué dans la figure 10, où on constate que les ergastoblastes se sont multipliés, — ils sont très nombreux, — ont augmenté de dimensions et se sont plus recourbés encore. En même temps, du chondriome ordinaire qui était en si grande quantité dans le stade précédent, il n'en reste plus que quelques rares granulations dispersées partout dans le cytoplasme. Cependant, l'aspect général du cytoplasme est un peu trouble, et si on regarde plus attentivement, on a l'impression qu'une grande quantité de fins filaments et granulations faiblement colorés s'y trouve. Mais on ne peut pas s'en convaincre avec certitude. La coloration de cette pièce étant faite à l'hématoxyline, les ergastoblastes apparaissent plus sveltes, bien qu'ils sont plus grands que dans le stade précédent. Le noyau est plus grand, plus riche en chromatine et tend à prendre la forme sphérique.

Du stade indiqué dans cette dernière figure, jusqu'à la cellule complètement développée, il n'y a qu'un petit degré sur lequel nous croyons qu'il est inutile d'insister.

Pour résumer, les cellules glandulaires du canal déférent, chez *Armadillidium vulgare,* passent par des cycles sécrétoires semblables à ceux de *Porcellio pictus* (?). Au point de vue cytolo-

gique, on observe quelques différences dans le comportement des ergastoblastes, parce que les rapports entre les vacuoles et les ergastoblastes paraissent moins « syntopiques » chez *Armadillidium vulgare* que chez *Porcellio pictus* (?), quoique les vacuoles prennent naissance au contact des ergastoblastes, et parce que, dans les cellules qui se régénèrent à la suite d'un cycle sécrétoire chez *Porcellio pictus* (?), il y a des ergastoblastes régénérateurs très évidents qui donnent naissance, par leur division, à la génération suivante d'ergastoblastes, tandis que, chez *Armadillidium*, dans le stade correspondant, les ergastoblastes sont tellement petits et le plus souvent si faiblement colorables, qu'ils sont difficiles à observer. Ces derniers ont pris naissance par la division répétée de certains ergastoblastes pendant le cycle sécrétoire précédent.

Chez « Cylisticus (Porcellio) convexus ». — Chez cette espèce, les cellules complètement développées sont un peu plus petites que chez les autres deux espèces étudiées plus haut. Les ergastoblastes, au contraire, sont beaucoup plus gros, comme on peut les voir dans les figures 11 et 12. Le cytoplasme présente les mêmes caractères d'homogénéité, densité et colorabilité. Les ergastoblastes sont uniformément répartis dans toute la cellule. Leurs dimensions sont variables, mais en général ils sont très gros. Leur forme est très variable et même bizarre, de sorte qu'il serait difficile de la décrire. Les figures 11 et 12 offrent les aspects le plus souvent rencontrés. En général, le filament externe est long et épais, presque toujours double, plusieurs fois ondulé ou recourbé en fer à cheval, ou a la forme d'une lyre souvent allongée. La substance interne étant relativement très colorable, les ergastoblastes sont, sur les coupes, plus massifs que ceux des autres deux espèces étudiées. Les deux bouts de chaque filament sont toujours effilés. D'autres fois, on peut observer des formes très allongées, telles que celle représentée dans la figure 11, à gauche et vers la base de la cellule, qui présente plusieurs renflements de chaque côté de la même substance. Ce sont des aspects de multiplication par division des ergastoblastes.

Parmi les ergastoblastes, on voit des granulations et surtout des filaments mitochondriaux très fins. Ces derniers sont très remarquables par leur longueur et leur constitution. En effet, tandis que, chez les deux autres espèces, ces filaments mitochondriaux sont généralement assez courts et lisses, ici ils peuvent avoir des longueurs considérables et, ce qui est à noter, ils sont presque toujours variqueux, présentant des nodosités sur leur

trajet imprécis. Les figures que nous donnons indiquent de façon incomplète ces détails à cause de leur finesse. On peut les observer mieux dans la figure 1, où on peut remarquer aussi que les filaments mitochondriaux peuvent avoir entre eux des anastomoses, présentant en quelque sorte un aspect réticulaire. Au point de vue de la répartition de ces formations, on peut dire qu'elles sont plus abondantes dans les parties latérales et vers la base des cellules que dans leurs régions supranucléaires.

Les aspects morphologiques de l'élaboration. — Dans certains stades de leur évolution, les grandes cellules ne contiennent pas des vacuoles : leur cytoplasme est, à ce point de vue, homogène. Mais quand elles apparaissent, on les voit tout d'abord dans la région supranucléaire de la cellule. Si on examine les aspects de certains ergastoblastes des figures 11 et 12, on peut se faire facilement la conviction que les vacuoles apparaissent dans la concavité des ergastoblastes, dans leur substance interne. Au début de leur formation, elles sont plus petites que les ergastoblastes et, par le fait que le filament chromophile de ceux-ci peut présenter plusieurs sinuosités, chaque ergastoblaste peut être associé à deux, trois et même plusieurs vacuoles (fig. 12). Dans les pièces fixées, on ne peut pas oberver, dans les vacuoles, aucun contenu figuré, ni au début de leur constitution, ni dans les stades ultérieurs.

Les ergastoblastes qui ont donné naissance aux vacuoles commencent à se désagréger en des granulations fuchsinophiles plus ou moins grosses, ou en courts filaments variqueux plus épais que les filaments mitochondriaux. Tous ces fragments restent à étroite proximité des vacuoles, et puis, petit à petit, ils disparaissent et les vacuoles restent libres dans le cytoplasme. Si on regarde les cellules dans ce stade, on pourrait se faire une fausse idée d' » hétérotopie » entre les ergastoblastes et le vacuome, parce qu'on peut y voir des vacuoles qui ne sont pas associées aux ergastoblastes, et des ergastoblastes qui ne sont pas accolés aux vacuoles. D'après ce que nous avons dit, on peut bien comprendre que les vacuoles qui sont libres le sont secondairement, par la disparition des ergastoblastes qui leur ont donné naissance, et les ergastoblastes qui ne sont pas associés aux vacuoles ne sont pas encore entrés, en réalité, dans la phase d'élaboration.

Quelquefois, les ergastoblastes peuvent disparaître par l'altération progressive de leur contour et par la perte de leur colorabilité.

Très fréquemment, dans la régior supranucléaire de la cellule,

plusieurs vacuoles se fusionnent les unes aux autres et donnent ainsi naissance à une grosse vacuole qui atteint et peut même dépasser les dimensions du noyau. Cette vacuole déprime, dans la plupart des cas, le côté apical du noyau auquel elle se trouve accolée, en constituant ainsi, dans cet endroit du noyau, une grande concavité. C'est un phénomène similaire à celui qu'on observe chez *Armadillidium,* mais plus accusé et qui se passe dans une région cellulaire exactement opposée.

L'élimination du produit de sécrétion et la reconstitution des cellules se passent de la même manière que chez les autres deux espèces, et nous croyons inutile d'y revenir. Nous montrerons seulement, dans ce qui suit, deux stades initiaux de reconstitution et de croissance des cellules (fig. 13 et 14). Dans la première figure (13), on voit la grande quantité de vacuoles qui se trouvent dans la zone apicale de la cellule, et le petit nombre d'ergastoblastes restés du précédent cycle sécrétoire. Dans la seconde figure (14), la cellule est dépourvue de vacuolisations, et les ergastoblastes sont très petits, nombreux et semblables aux éléments du chondriome ordinaire. On arrive pourtant à les distinguer de ceux-ci, grâce au fait que beaucoup d'entre eux sont recourbés en croissant et possèdent une petite quantité de substance chromophobe dans leur concavité; en même temps, le chondriome ordinaire est beaucoup moins colorable, dans ce stade, que les ergastoblastes, ce qui s'observe aussi chez *Porcellio pictus* (?), inversement de ce qui se passe chez *Armadillidium vulgare.*

On trouve aussi, comme chez les autres espèces, des images de division amitotique des noyaux. (Dans la figure 14, on peut voir le commencement d'une telle division.)

Toutes les descriptions que nous avons faites jusqu'ici comportent seulement des pièces traitées par les techniques mitochondriales, parce que, dans ces pièces, on peut analyser avec précision les phénomènes de sécrétion, tandis que, par les techniques d'imprégnations métalliques et d'observations vitales, on n'obtient que des résultats partiaux; jamais nous n'avons pas obtenu, par ces dernières techniques, quelque chose qui n'ait pas été observé par les techniques mitochondriales. Par suite, nous avons cherché d'omettre une ample description des observations faites par d'autres techniques que les mitochondriales, afin de ne pas charger inutilement l'exposition des faits, bien que les résultats obtenus par ces techniques ne sont pas moins réussis que ceux obtenus par les techniques mitochondriales. Cependant, elles nous ont été indispensables comme méthodes

de contrôle. Nous nous contenterons de dire seulement quelques mots sur les observations faites par ces techniques, bien qu'elles n'apportent rien de nouveau et ne sont pas destinées à compléter la description que nous avons faite plus haut.

Par les techniques métalliques, on obtient assez facilement, et en premier lieu, les ergastoblastes (dans les grandes cellules) et quelquefois le chondriome ordinaire. L'imprégnation du vacuome est en général plus difficile, surtout par les techniques argentiques, et présente les caractéristiques suivantes : dans les grandes cellules, les vacuoles de la région supranucléaire et des régions latérales s'imprègnent beaucoup mieux que celles de la région apicale, quoiqu'elles sont, le plus souvent, beaucoup plus grandes que celles-ci, qui restent en clair dans les préparations. Jamais les vacuoles ne sont imprégnées entièrement : toujours il reste à la périphérie, ou vers le milieu des vacuoles, des espaces clairs plus ou moins étendus et plus ou moins réguliers. Dans les cas où les vacuoles sont bien imprégnées, les ergastoblastes le sont très faiblement, paraissant comme des ombres pâles; au contraire, quand ces derniers sont bien imprégnés, les vacuoles restent claires.

Dans les pièces traitées par les techniques d'imprégnation métalliques, on ne peut rien observer sur les relations fonctionnelles possibles entre les ergastoblastes et les vacuoles. On ne peut constater que tout simplement leur présence simultanée dans le cytoplasme. Dans les cellules basses, prismatiques, sont les grains de sécrétion, les mitochondries ordinaires et les ergastoblastes qui s'imprègnent par les techniques métalliques. Les vacuoles, qui sont claires dans les préparations mitochondriales, le sont aussi dans ce cas.

Dans des observations vitales, chez toutes les trois espèces étudiées, on voit très clairement les ergastoblastes et le chondriome ordinaire sans aucune coloration, grâce à leur réfringence. Si on ajoute du vert janus ou du violet dahlia, ces formations apparaissent beaucoup plus contrastiques : le chondriome ordinaire sous la forme de granulations et de filaments, quelquefois anastomosés en petits réseaux, bien colorés en bleu ou en violet et les ergastoblastes très faiblement colorés.

Le rouge neutre colore le vacuome, surtout dans les cellules prismatiques. Dans les grandes cellules, il y a des cas où une quantité variable de vacuoles se colore par cette substance; dans d'autres cas, au contraire, on ne peut voir aucune vacuole colorée. Ces deux cas peuvent se passer en même temps sur le même

organe, dans des cellules différentes, ou sur des organes différents. Si on prolonge excessivement la coloration, des vacuoles colorées peuvent apparaître dans toutes les cellules et même très nombreuses. Mais on ne peut pas considérer ces vacuoles comme normalement existantes dans le cytoplasme, d'autant plus qu'au moment de leur apparition, les cellules présentent des signes d'altération plus ou moins accentués.

En général, les colorations vitales, ainsi que les techniques métalliques, confirment les résultats obtenus par les méthodes de fixation et de coloration, et confirment encore, surtout, l'absence plus ou moins complète des vacuoles dans les cellules, dans certains moments de leur évolution.

CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES

Après la description qui vient d'être faite, de nos recherches, nous passerons maintenant à une petite vue d'ensemble, en comparant les résultats généraux obtenus chez les trois espèces d'Isopodes étudiées.

En premier lieu, chez toutes les trois espèces, nous avons constaté la présence, dans le cytoplasme, de trois catégories de constituants : *le vacuome, les ergastoblastes* et *le chondriome ordinaire*. Quant à la forme, à la structure et quelquefois à leur position dans la cellule, ces trois catégories d'éléments présentent des différences remarquables d'une espèce à l'autre, mais ces différences sont tout à fait secondaires et ne touchent rien moins que le caractère général de leur fonction.

Le *vacuome* se présente sous la forme d'éléments isolés, de dimensions variables, dispersés généralement dans tout le cytoplasme, affectant quelquefois des rapports de voisinage avec le noyau, surtout dans les régions infranucléaire et latérales de la cellule chez *Armadillidium vulgare*, dans les régions supranucléaire et latérales chez *Cylisticus convexus*. Dans le matériel étudié par nous, ce constituant passe, en ce qui concerne son abondance, par des oscillations très importantes pendant l'évolution des cellules, à savoir : souvent, le cytoplasme en est presque complètement occupé, d'autrefois, il est extrêmement réduit et, dans d'autres cas, on pourrait même dire qu'il manque plus ou moins complètement. On peut appuyer cette dernière assertion sur deux faits d'observation : premièrement, dans des pièces fixées et dans certains stades, les cellules sont complètement

dépourvues de vacuolisations et de grains de sécrétion décelables, le cytoplasme apparaît complètement homogène (en faisant abstraction des mitochondries et des ergastoblastes); secondairement, dans des colorations vitales au rouge neutre, les grandes cellules donnent des résultats souvent négatifs, et cependant, à côté d'elles, il y en a d'autres qui sont riches et même très riches en vacuoles colorées en rouge.

Cette inconstance du vacuome indique le rôle secondaire qu'il a pour la physiologie de ces cellules. Il paraît que sa présence est liée à la nécessité d'emmagasiner les substances produites par l'activité d'autres éléments constitutifs de la cellule. Et, en effet, nous avons vu plus haut que, chez toutes les trois espèces d'Isopodes étudiées, les vacuoles inexistantes jusqu'à un certain moment dans le cytoplasme, prennent naissance et se développent progressivement dans la concavité des ergastoblastes ou à étroite proximité de ceux-ci, ce qui s'observe de manière très démonstrative surtout chez *Porcellio pictus* (?).

Les ergastoblastes sont, dans les cellules étudiées, d'une abondance et de dimensions rarement décrites en cytologie. On pourrait les comparer, à ce point de vue, aux ergastoblastes décrits dans les cellules nerveuses de l'escargot (D. Voinov et Athanasiu, *1928*), ou aux dictyosomes décrits dans les cellules des glandes salivaires chez les larves de Chironomus (Beams, *1930*). C'est grâce à ces caractères qu'ils ont été observés depuis longtemps dans les cellules du canal déférent de l'*Oniscus murarius*, par L. Nichols *(1901)*, sans que cet auteur puisse se rendre compte de la nature et du rôle de ces éléments dans la cellule.

En ce qui concerne leur structure morphologique, les ergastoblastes diffèrent d'une espèce à l'autre, montrant des caractères de complexité progressive dans l'ordre chronologique décrit : chez *Porcellio pictus* (?), ils sont simples et recourbés en forme de croissant ou en fer à cheval; chez *Armadillidium*, ils présentent presque toujours l'aspect de figures myéliniques et sont plus recourbés que chez l'espèce précédente; chez *Cylisticus convexus*, enfin, les sinuosités qu'ils présentent sont tellement capricieuses qu'il est très difficile de trouver un critérium convenable pour les décrire. Chez cette espèce, la forme des ergastoblastes se complique davantage par le fait que chacun de ces éléments est constitué par plusieurs filaments, et chaque filament est recourbé souvent différemment des autres, dans la même masse interne.

L'évolution des ergastoblastes est une des plus frappantes et

des plus significatives. A un moment donné de l'évolution des cellules, ils atteignent un maximum de développement, — dimensions et structure, — qui coïncide avec le commencement du phénomène d'élaboration dans la cellule; après quoi, ils diminuent peu à peu jusqu'à ce qu'ils disparaissent, ou ils se dispersent en petits fragments qui disparaissent aussi; ou, enfin, — quelques-uns, — se divisent plusieurs fois en donnant ainsi naissance à des petits éléments. Au bout du cycle sécrétoire, il ne reste, dans le cytoplasme des ergastoblastes, que ces derniers qui sont nés par division des autres ergastoblastes. Chez *Porcellio pictus* (?), il y a quelques ergastoblastes qui gardent des dimensions appréciables et aussi leurs formes caractéristiques, tandis que, chez *Armadillidium* et *Cylisticus,* ils sont tellement petits qu'il est très difficile de les distinguer parmi les éléments du chondriome ordinaire. Cette régression des ergastoblastes se passe pendant la période d'élaboration et dure autant que cette période. Une fois l'élaboration finie, la régression des ergastoblastes est finie elle aussi; après quoi commence la période de régénération de la cellule pendant laquelle, tandis que le produit de sécrétion est rejeté dans la lumière du canal déférent, les ergastoblastes s'accroissent et se divisent.

Il s'ensuit donc que les ergastoblastes sont toujours présents dans la cellule pendant tout son cycle fonctionnel. (Naturellement, il y en a qui disparaissent, mais ils sont remplacés par d'autres qui sont nés par division des éléments préformés.)

Le chondriome ordinaire se trouve dans le cytoplasme simultanément avec les ergastoblastes pendant toute l'évolution de la cellule. Il se présente sous des aspects différents d'une espèce à l'autre; mais en général il se trouve, chez les trois espèces étudiées, sous les trois aspects classiques : grains, bâtonnets et filaments très fins. Chez *Porcellio pictus* (?), les filaments sont très courts dans les grandes cellules, plus longs dans les cellules en voie de régénération; chez *Armadillidium,* dans les grandes cellules, les filaments et les bâtonnets sont plus longs que chez *Porcellio pictus* (?), mais dans les phases de régénération, le chondriome est presque exclusivement granulaire; enfin, chez *Cylisticus convexus,* les filaments sont quelquefois très longs et souvent réticulaires dans les grandes cellules, plus courts et moins colorables dans la période de reconstitution des cellules. En ce qui concerne la quantité, le fait généralement observé est que, dans les grandes cellules, il est peu abondant et ramassé surtout vers la base des cellules, tandis que, dans la période la

plus active de la reconstitution, les cellules en sont richement pourvues.

Il est à remarquer — et nous avons spécialement attiré l'attention sur ce fait — que, chez *Armadillidium*, dans la période de reconstitution des ergastoblastes, le chondriome granulaire, très abondant, est entassé principalement autour de ces derniers en formant des petits amas. Nous avons insisté encore, ci-dessus, sur le fait que, surtout chez *Cylisticus*, les filaments chondriosomiques ont une structure irrégulière, variqueuse.

Après ces observations, une des déductions possibles, et la plus justifiée, serait que le chondriome ordinaire représenterait, dans les cellules étudiées par nous, *non pas des organites spéciaux de forme et de structure déterminées, mais une substance finement dispersée dans le cytoplasme sous la forme de granulations et de filaments*; que *cette substance, synthétisée dans le cytoplasme à la base de la cellule et aux dépens des substances d'absorption, servirait, entre autres, comme matériel de reconstitution de la cellule et spécialement de ces éléments à forme et à caractère de permanence : les « ergastoblastes »*. Considérée comme telle, cette substance mitochondriale peut être trouvée toujours dans le cytoplasme; c'est sa masse qui a un caractère de variabilité périodique.

Regardés à ce point de vue, les ergastoblastes présentent le caractère d'étroite parenté avec le chondriome ordinaire, en tant qu'ils possèdent dans leur constitution la même substance, ce qui leur rend certains caractères physico-chimiques communs : ils ont la même réfringence sur le vivant, la même sensibilité à l'égard des variations physiques et chimiques en s'altérant facilement dans certaines conditions, se teignent par les mêmes colorants vitaux, sont conservés dans les préparations par les mêmes techniques de fixation et se colorent de la même manière, ont la même affinité pour les sels métalliques (argent et osmium). Tous ces faits imposent de considérer les ergastoblastes comme faisant partie du chondriome. Cependant, les variations individuelles que présentent chacune de ces deux catégories d'éléments, au point de vue des caractères physico-chimiques indiqués plus haut, à savoir : une grande résistance des ergastoblastes vis-à-vis des colorants vitaux du chondriome; leur résistance un peu plus grande dans les procédés de fixation, et quelquefois leur colorabilité un peu différente de celle du chondriome ordinaire dans les pièces fixées; leur plus grande affinité pour les sels d'argent et d'osmium dans les imprégnations, et surtout leur forme diffé-

rente et caractéristique, leur évolution et leur rôle démontrés dans la sécrétion, nous obligent de regarder ces éléments comme des organites spéciaux, bien que de la catégorie du chondriome, différenciés de manière permanente pour la fonction de l'élaboration dans la cellule. Le chondriome ordinaire n'a que la qualité d'auxiliaire indispensable dans ce phénomène.

Ces organites spécialisés et à caractère permanent dans la cellule méritent donc d'avoir une dénomination propre; nous ne sommes d'ailleurs pas les premiers à le dire, — et de toutes les dénominations qu'on leur a consacrées jusqu'ici, nous estimons que la plus convenable est celle d' « ergastoblaste », proposée par D. Voinov *(1928)*. Cette dénomination a l'avantage de concerner non pas leur forme, mais leur fonction. En effet, la dénomination de dictyosomes, que certains auteurs donnent encore à ces éléments, a le grand désavantage d'être purement morphologique et prêtant donc facilement à des confusions. Ainsi, Parat *(1928)* a montré que, sous la dénomination de dictyosomes, on a décrit des formations hétérogènes dont les éléments sont quelquefois du chondriome spécial de la zone de Golgi (« lépichondriosomes »), d'autres fois des vacuoles diversement imprégnées.

L'élaboration. — Si on prend en considération ce que nous avons dit plus haut, à l'occasion des discussions sur chaque constituant à part, l'interprétation du phénomène sécrétoire paraît ressortir de manière assez claire. Les ergastoblastes sont des organites spécialement dédiés à l'activité sécrétoire et ont, sous l'ensemble des aspects morphologiques, le rôle principal dans l'élaboration. Pendant qu'ils s'accroissent, ils se chargent d'une substance spéciale de constitution lipoïdique qui, en s'accumulant surabondamment à leur niveau, diffuse et passe aussi dans les concavités que les ergastoblastes possèdent presque toujours. Au milieu de cette substance, — « Apparatinternum », — se constitue le premier produit de sécrétion, et comme conséquence, dans cet endroit, prend naissance la vacuole qui doit emmagasiner ce produit. Dans ce processus d'élaboration, la substance propre des ergastoblastes diminue petit à petit pour disparaître finalement, preuve évidente de l'activité propre des ergastoblastes dans le phénomène de sécrétion.

Si, maintenant, on se demande de quelle manière la substance des ergastoblastes contribue à la production de la substance de sécrétion, cela est très difficile à dire. La corroboration des recherches physico-chimiques pourrait, peut-être, faire lumière dans cette délicate question. Des observations que nous avons

faites, la supposition la plus logique serait que la substance des ergastoblastes est englobée dans la vacuole, mais on ne pourrait pas affirmer si elle se transforme, là dedans ou préalablement, directement en substance de sécrétion, ou si elle a en même temps ou exclusivement un rôle catalytique en activant la formation de ces produits aux dépens des substances chimiques diffusées dans le cytoplasme. Le cadre des observations objectives ne nous permet pas, pour le moment, d'autres considérations à ce sujet.

Il paraît que, pour que le phénomène de sécrétion puisse se déclencher, une saturation au niveau des ergastoblastes, et puis la rupture d'un équilibre de phases, sont nécessaires. Nous appuyons cette assertion sur le fait que, jusqu'à un moment donné de l'évolution des cellules et donc aussi des ergastoblastes, on ne peut constater l'apparition d'aucune trace de produit de sécrétion figuré, bien que les ergastoblastes sont très abondants et assez vigoureux. Naturellement, l'existence dans la cellule d'un autre régulateur sécrétoire est aussi possible, mais cela dépasse le cadre des observations que nous avons faites dans cette étude.

Quand le produit élaboré se trouve en quantité appréciable dans les vacuoles, il se condense alors sous la forme bien connue de grains de sécrétion. Ceux-ci sont éliminés hors de la cellule après leur désagrégation en granulations très fines.

*
**

Comme nous l'avons montré dans la partie introductrice de cette publication, il existe actuellement, dans la cytologie, trois conceptions sur la structure morphologique du cytoplasme :

a) D'après Hirschler, il existe, dans le cytoplasme, trois catégories de constituants : *le chondriome, l'appareil de Golgi* et *le vacuome*. L'appareil de Golgi se trouve, chez les Invertébrés, sous la forme de corps golgiens isolés, — les dictyosomes, — et, chez les Vertébrés, sous la forme d'un réseau à position généralement supranucléaire.

b) D. Voinov a montré que les dictyosomes des Invertébrés ne correspondent pas à l'appareil de Golgi des Vertébrés, mais doivent être considérés comme un constituant à part, ayant un rôle spécial dans la sécrétion. Les parasomes et les noyaux vitellins entrent dans cette catégorie de constituants qui sont les ergastoblastes. Il existe donc, au moins dans la cellule des Invertébrés, trois constituants cytoplasmiques : *le chondriome, les ergastoblastes* et *le vacuome*.

c) Parat attribue une grande valeur au vacuome et nie l'existence des dictyosomes (ergastoblastes) dans les cellules somatiques, en considérant ces derniers comme des vacuoles diversement imprégnées ; mais, en même temps, il admet que les cellules germinales possèdent, dans leur cytoplasme, des éléments identiques aux dictyosomes et qu'il interprète comme des éléments chondriosomiques hypertrophiés. Quelquefois, cette hypertrophie est ontogénétique ; d'autres fois, elle est fixée et héréditaire, donc phylogénétique. Parat admet donc la présence, dans la cellule animale, de deux catégories de constituants : *le chondriome* et *le vacuome*.

Sans entrer dans la critique de ces conceptions, nous montrerons que nos résultats présentent beaucoup de points communs avec les deux dernières conceptions. En effet, nous avons décrit, dans le matériel étudié dans le présent mémoire, trois catégories d'éléments cytoplasmiques : *le chondriome ordinaire, les ergastoblastes* et *le vacuome*. Nous sommes donc d'accord avec D. Voinov, avec la seule différence que nous considérons les ergastoblastes de la même nature que le chondriome, qu'ils sont des éléments chondriosomiques spécialisés, possédant des caractères définitivement fixés et ayant des attributions spéciales dans le phénomène d'élaboration. Regardés comme tels, ces éléments doivent être considérés à part sous le nom d'ergastoblastes donné par D. Voinov. Dans notre matériel, ces éléments sont précisément distincts et reconnaissables pendant toute leur évolution, même quand leurs dimensions et leur forme se ramènent au même niveau que celles des éléments chondriosomiques ordinaires. Les éléments qu'on voit donc s'hypertrophier à un moment donné dans le cytoplasme, parmi les éléments chondriosomiques, ne sont pas des éléments quelconques de ce dernier, mais sont des éléments déterminés. A ce point de vue, nos résultats diffèrent de ceux de Parat qui ne voit pas, entre les chondriosomes ordinaires et les éléments pachynétiques, que des différences secondaires, le plus souvent temporaires.

D. Voinov a montré que les ergastoblastes ont la valeur d'un constituant cytoplasmique, parce qu'ils existent dans toutes les cellules, ce qui est vrai pour les Invertébrés. Chez les Vertébrés, sans parler des cellules germinales, on trouve les parasomes qui leur sont homologues. Mais ceux-ci n'existent pas partout. Pourtant, il existe, dans les cellules somatiques des Vertébrés, une catégorie d'éléments chondriosomiques possédant des caractères physico-chimiques spéciaux, permanents, qui sont étroite-

ment associés à la zone cytoplasmique où a lieu l'élaboration : ce sont les chondriosomes actifs de la zone de Golgi (Marg. et M. Parat, *1930*) qui, par tous leurs caractères, peuvent être, croyons-nous, homologués aux ergastoblastes.

Si on jette maintenant un petit coup d'œil sur la constitution de la cellule végétale, et si on prend en considération les résultats obtenus par le plus autorisé chercheur dans ce domaine, A. Guilliermond, on voit que le chondriome de la cellule végétale est constitué par deux variétés d'éléments : les chondriosomes ordinaires et les chondriosomes actifs dans la photo-synthèse, les plastes. Le rôle du chondriome ordinaire n'est pas encore bien défini, mais celui des plastes est d'élaborer surtout des grains d'amidon. La distinction morphologique de ces deux catégories d'éléments est quelquefois facile, grâce au fait que, pendant la période la plus active de l'élaboration, les plastes ont des dimensions plus grandes que les chondriosomes ordinaires. Dans beaucoup de cas, même si le phénomène de l'élaboration manque dans certaines périodes de l'évolution des cellules, les plastes sont faciles à reconnaître, grâce à leur constitution filamenteuse, tandis que les chondriosomes ordinaires sont granulaires ou bacilliformes. Assez souvent cependant, cette distinction n'est possible que dans la période d'élaboration, dans les stades précédant les deux catégories d'éléments ayant les mêmes aspects morphologiques. Chez les végétaux auxquels l'activité photosynthétique manque complètement, le chondriome est morphologiquement identique à celui de la cellule animale, c'est-à-dire qu'il n'est pas différencié en deux variétés, comme c'est le cas des Champignons (Saprolegnia).

Si on tient compte des propriétés physiologiques spéciales de la cellule animale et de la cellule végétale, on voit donc que les points de comparaison, — au point de vue de la constitution morphologique du cytoplasme, — entre ces deux grandes catégories de cellules, ne manquent pas ; au contraire, les cellules des deux règnes vivants paraissent avoir le même plan de structure morphologique. Naturellement, cette assertion n'est pas quelque chose de nouveau, mais nous voulons accentuer encore une fois que, pour nous rendre bien compte de la structure morphologique réelle de la cellule et de la valeur de ses constituants cytoplasmiques, il ne suffit pas d'étudier seulement les aspects trouvés au hasard, à un moment donné de l'évolution de la cellule, mais il faut poursuivre pas à pas toutes les phases de son évolution.

Les cellules glandulaires que nous avons étudiées dans le présent mémoire nous en donnent encore un exemple.

Nos recherches sur le mécanisme sécrétoire des cellules glandulaires du canal déférent des Isopodes tendent à démontrer le rôle spécial des ergastoblastes dans ce mécanisme. A ce point de vue, nos résultats concordent à ceux obtenus par Jacobs *(1928)* dans l'hépato-pancréas de l'écrevisse. Cet auteur montre que la substance sécrétée a deux sources génétiques : une nucléaire qui se constitue sous la forme de parasomes au-dessus du noyau, et l'autre dictyosomique (golgienne). La manière dont les dictyosomes produisent la substance de sécrétion est la suivante : pendant le développement des dictyosomes, il apparaît, dans la concavité de ceux-ci, la substance interne (« Apparatinternum »), qui n'est que précurseur des grains de sécrétion. Pendant que ceux-ci se constituent, le filament externe du dictyosome diminue petit à petit de dimensions et finit par disparaître, et le grain de sécrétion reste ainsi libre. La substance des grains de sécrétion fusionne ensuite avec celle des parasomes en donnant naissance à une grosse vésicule supranucléaire. Les éléments golgiens se reconstituent par néoformation à la base des cellules. Le rôle du chondriome dans ces phénomènes ne peut pas être précisé.

Nos résultats diffèrent de ceux obtenus par cet auteur en ce que, dans notre matériel, la substance sécrétée apparaît sous la forme de vacuoles dont le contenu précipite sous l'action des fixateurs. Les grains de sécrétion se constituent secondairement par la condensation de cette substance. Jacobs ne fait pas d'observations vitales et il ne dit donc rien sur le vacuome. D'autre part, nous n'accordons pas aux dictyosomes la même signification que cet auteur et n'admettons pas, non plus, leur constitution par néoformation.

Nous rappelons que Hosselet *(1931)* a montré que, chez les Insectes, les vacuoles prennent naissance pendant la sécrétion, au contact des chondriosomes élaborateurs, et qu'elles se détruisent pendant l'élaboration, ce qui concorde avec nos observations.

De même, Weiner *(1930)*, dans les ovocytes de l'*Allobophora* et d'*Eisenia*, montre que les vacuoles ne sont pas préformées, mais elles prennent naissance dans la concavité des dictyosomes. Ceux-ci sont les éléments élaborateurs. Au contraire, D. Voinov *(1927)* a montré que les vacuoles peuvent être préformées et que leur syntopie avec les ergastoblastes est tout à fait secondaire. Elle s'effectue par l'accolement les uns aux autres de ces deux éléments, les ergastoblastes autour des vacuoles. Gambier *(1929)*,

dans la spermatogénèse de *Discoglossus*, a montré que la syntopie entre le vacuome et les lépidosomes est quasi parfaite, qu'elle apparaît dès le début, et qu'une fois le grain de l'acroblaste constitué, les lépidosomes s'en détachent.

D. Voinov (1928), dans les glandes salivaires et les cellules nerveuses de l'escargot, montre que les ergastoblastes sont les éléments élaborateurs et qu'ils se détruisent pendant et à la suite de leur activité.

Dans de nombreux mémoires cytologiques, on trouve beaucoup de faits qui prouvent le rôle élaborateur des ergastoblastes, bien que souvent ce rôle n'est pas déclaré par les auteurs.

Ainsi, Stéopoë *(1929)*, en étudiant la vitellogénèse chez *Lygia*, montre que les lépidosomes apparaissent précisément au moment où commence l'élaboration du vitellus. L'auteur n'établit aucun rapport entre ces deux formations, mais l'hypertrophie des lépidosomes, justement au moment où commence l'activité élaboratrice dans la cellule, est tout à fait significatrice.

De même, Jacquiert *(1931)*, dans les ovocytes de *Tegenaria*, trouve que le vacuome a une évolution centrifuge par rapport au noyau vitellin. Pendant la formation du vitellus secondaire, on voit même des grains de vitellus qui se constituent entre les lamelles du noyau vitellin.

Tous ces faits montrent suffisamment l'influence indiscutable des formations ergastoblastiques dans la sécrétion et indiquent leur rôle prépondérant dans ce phénomène, bien que ce rôle n'ait pas été toujours précisé par les auteurs.

CONCLUSIONS

1. Les cellules glandulaires du canal déférent des Isopodes passent par des cycles évolutifs de sécrétion, pendant les phases desquels elles prennent des dimensions et des aspects structuraux différents.

2. Dans la structure morphologique du cytoplasme de ces cellules, on trouve trois constituants : *le chondriome ordinaire*, *les ergastoblastes* et *le vacuome*.

3. Les ergastoblastes, par leurs caractères physiques et histochimiques, présentent des ressemblances évidentes avec le chondriome et nous les considérons, en conséquence, comme une

variété de celui-ci, spécialisée pour la fonction d'élaboration et présentant des caractères définitivement fixés.

4. Pendant le cycle sécrétoire, les ergastoblastes se multiplient par division et s'accroissent, élaborent et puis disparaissent. Un certain nombre d'entre eux se conservent et, par division, donnent naissance à la génération suivante d'ergastoblastes.

5. L'élaboration se produit au niveau des ergastoblastes. La substance élaborée se dépose dans des vacuoles nouvellement formées dans la concavité des ergastoblastes ou à étroite proximité de ceux-ci, puis elle se condense en grains de sécrétion. Leur élimination du cytoplasme se fait après une désagrégation préalable en granulations assez fines.

6. Dans le phénomène de l'élaboration, les ergastoblastes ont le rôle essentiel. Ils s'usent complètement à la suite de leur activité et disparaissent comme tels du cytoplasme.

7. Le chondriome ordinaire subit, pendant le cycle sécrétoire, des oscillations quantitatives, sans qu'on puisse lui attribuer un rôle déterminé dans l'élaboration.

8. Les vacuoles, au moins dans leur majorité, ne sont pas des éléments absolument permanents dans le cytoplasme et elles ne peuvent donc pas avoir, au moins dans le matériel étudié ici, qu'un rôle tout à fait secondaire dans l'élaboration. Elles prennent naissance pendant l'élaboration et emmagasinent la substance sécrétée. Dans certaines phases qui précèdent les phénomènes d'élaboration, le vacuome ne peut pas être décelé par les techniques de colorations vitales, ni par les techniques de fixation et d'imprégnation.

9. Nos résultats concordent avec ceux obtenus par Voinov, Jacobs, Hosselet, Gambier, Weiner, etc., mais ne sont pas tout à fait identiques.

BIBLIOGRAPHIE

1930. — Beams et Goldsmith : « Golgi bodies, vacuome, and mitochondria in the salivary glands of the Chironomus larva. » (*Journ. Morph. and Physiol.*, vol. 50.)

1929. — Gambier (E.) : « Evolution du chondriome ordinaire et du chondriome actif (lépidosomes) au cours de la spermatogénèse et de la spermiogénèse du Discoglosse. » (*C. R. Soc. Biol.*, vol. 101.)

1924. — Guilliermond (A.) : « Sur les constituants morphologiques du cytoplasme de la cellule végétale. » (*Arch. d'Anat. micr.*, vol, 20.)

1932. — Id. : « La structure de la cellule végétale. » (*Protoplasma*, vol. 16.)

1928. — Hirschler (J.) et Monné (I.) : « Studien über die Plasmakomponenten an vital gefärbten männlichen Geschlechtzellen einiger Saüger. » (*Zeitschr. f. Zellf. u. mikr. Anat.*, vol. 7.)

1931. — Hosselet (C.) : « Contribution à l'étude du chondriome chez les Insectes. » (*Arch. de Zool. exp. et génér.*, vol. 72.)

1928. — Jacobs (W.) : « Untersuchungen über die Cytologie der Sekretbildung in der Mitteldarmdrüse von Astacus leptodactylus. » (*Zeitschr. f. Zellf. u. mikr. Anat.*, vol. 8.)

1931. — Jacquiert (Cl.) : « Evolution du vacuome et des constituants cytoplasmiques dans l'ovogénèse de Tegenaria parietina. » (*C. R. Soc. Biol.*, vol. 107.)

Id. : « Formation du vitellus secondaire dans l'ovogénèse de Tegenaria parietina. » (*Ibid.*)

1931. — Juga (V.) : « Les pigments de la Glossosiphonia paludosa. » (*Arch. Zool. exp. et génér.*, vol. 71.)

1922. — Lutz (H.) : « Physiologische und morphologische Deutung der im Protoplasma der Drüsenzellen ausserhalb der Kernes vorkommenden Strukturen. » (*Arch. f. Zellf.*, vol. 16.)

1924. — Morelle (J.) : « La substance de Golgi dans les cellules pancréatiques des Vertébrés. » (*C. R. Soc. Biol.*, vol. 91.)

1927. — Id. : « Les constituants du cytoplasme dans le pancréas et leur intervention dans le phénomène de sécrétion. » (*Cellule*, vol. 37. De l'*Ann. biol.*, vol. 34.)

1924. — Laguesse : « Sur le sort des chondriosomes après l'élaboration des grains de sécrétion. » (*Bull. Hist. appl.*, vol. 91.)

1923. — Noël (R.) : « Recherches histophysiologiques sur la cellule hépatique des Mammifères. » (*Arch. d'Anat. micr.*, vol. 19.)

1924. — Id. : « Que deviennent les chondriosomes après l'élaboration des granules intra-cellulaires ? » (*Bull. d'Histol. appl.*, vol. 1.)

1925. — Noël et Mangenot : Les fonctions élaboratrices du chondriome. Etat actuel de la question. (*Ibid.*, vol. 2.)

1928. — Parat (M.) : « Contribution à l'étude morphologique et physiologique du cytoplasme. » (*Arch. d'Anat. micr.*, vol. 24.)

1929. — Id. : Le chondriome actif de la cellule animale et le phénomène de pachynèse. » (*C. R. Acad. Sc. Paris*, vol. 108.)

1930. — Id. : « Evolution philo- et onto-génétique du vacuome du chondriome actif et du système ou de la zone de Golgi de la cellule animale. » (*C. R. Assoc. Anat.*)

1930. — Parat (Marg. et M.) : « Essai d'analyse histochimique et morphologique de la zone de Golgi. » (*Arch. d'Anat. micr.*, vol. 26.)

1901. — Nichols (L.) : « The spermatogenesis of *Oniscus asellus*. » (*Proc. Am. Philos. Soc.*, vol. 41.)

1910. — Perroncito (A.) : « Contribution à l'étude de la biologie cellulaire. » (*Arch. ital. de Biol.*, vol. 54.)

1930. — Radu (V.) : « Structure histologique et cytologique du canal déférent chez *Armadillidium vulgare.* » (*Arch. Zool. exp. et génér.*, vol. 70.)

1929. — Stéopoe (I.) : « Les constituants cytoplasmiques et la vitellogénèse chez *Lygia oceanica.* » (*C. R. Soc. Biol.*, vol. 102.)

1927. — Voinov (D.) : « Le vacuome et l'appareil de Golgi dans les cellules mâles de *Notonecta glauca.* » (*Arch. Zool. exp. et génér.*, vol. 67.)

1928. — Id. : « Les parasomes sont des ergastoblastes (dictyosomes). » (*C. R. Soc. Biol.*, vol. 109.)

Voinov (D.) et Athanasiu (M.) : « Les dictyosomes (ergastoblastes) dans la cellule nerveuse. » (*Ibid.*)

1929. — Voinov (D.) : « Mécanisme sécrétoire des cellules. » (*Ibid.*, vol. 101.)

1929. — Voinov (V.) : « Excreția prin intermediul cromatocitelor la nevertebrate. » (*Teză, Fac. Științe. București.*)

1930. — Weiner (P.) : « Witale Beobachtungen über den Golgi-Apparat bei der Ovogenese der Regenwürmer *Allobophora calligonosa* und *Eisenia rosea.* » (*Zeitschr. f. mikr. anat. Forsch.*, vol. 20.)

EXPLICATION DES PLANCHES

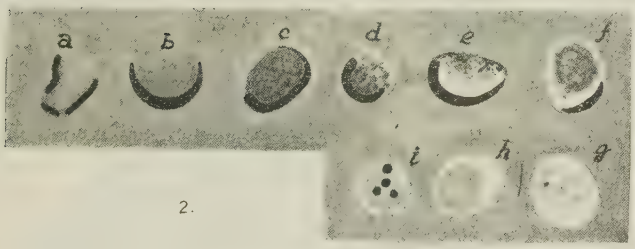
Planche I.

Fig. 1. — *Porcellio pictus* (?). Portion d'une grande cellule. On voit la présence des ergastoblastes et du chondriome ordinaire. Dans la concavité des ergastoblastes, on voit des espaces clairs (les futures vacuoles) dans lesquels on aperçoit la présence d'un fin précipité. (*Fix. Dietr.-Parat; col. Volkonsky; optique : Fl. 100; ocul. comp. 15.*)

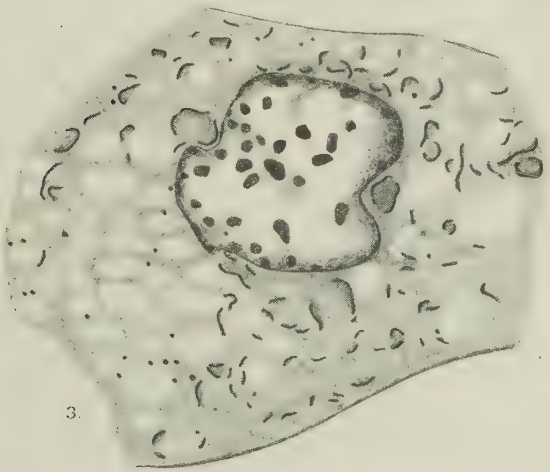
Fig. 2. — *Porcellio pictus* (?). Divers aspects par lesquels passent les ergastoblastes, les vacuoles et la substance élaborée durant un cycle sécrétoire. *(Même technique que dans la figure précédente. Optique : Fl. 100; ocul. comp. 18.)*

Fig. 3. — *Porcellio pictus* (?). Une cellule au début de sa reconstitution. La coupe est un peu oblique. (*Même technique que dans la figure 1.*)

1



2.



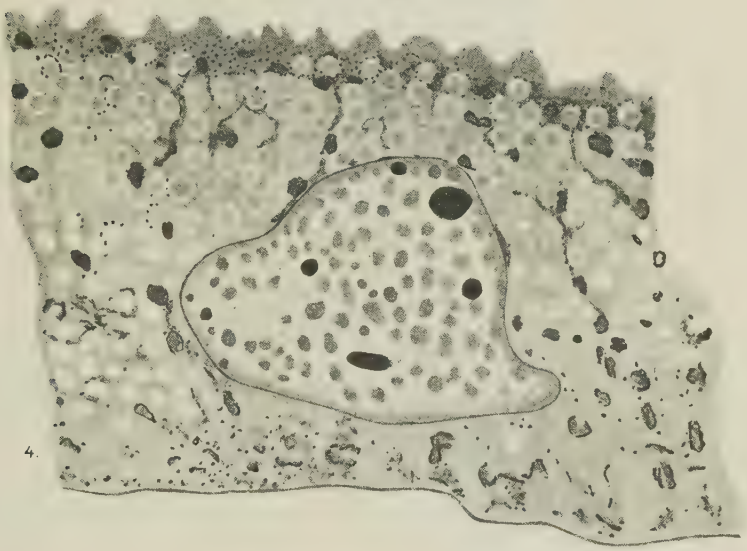
3.

MASSON ET C^ie^, ÉDITEURS

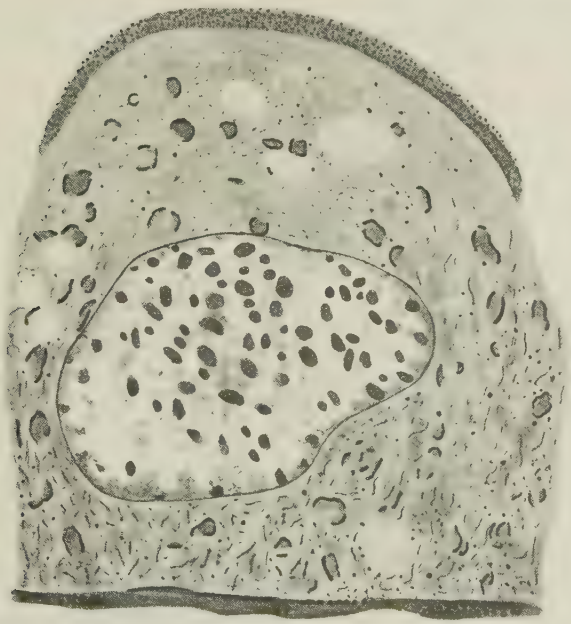
Planche II.

Fig. 4. — *Porcellio pictus* (?). Cellule à la fin du cycle de sécrétion. Le cytoplasme est bourré de grains de sécrétion et apparaît alvéolisé par des vacuoles claires. Les ergastoblastes en petit nombre et en voie de fragmentation. (*Même technique que dans la figure 1.*)

Fig. 5. — *Porcellio pictus* (?). Cellule en pleine activité de reconstitution. Les ergastoblastes se sont beaucoup accrus et se divisent activement. Le chondriome ordinaire très abondant, surtout vers la base de la cellule. On voit encore, vers la partie apicale de la cellule, quelques grains de sécrétion restés du cycle sécrétoire précédent. (*Même technique que la figure 1.*)



4.



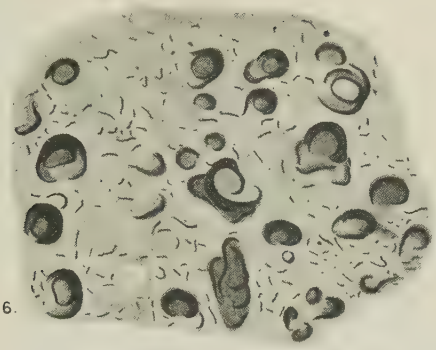
5.

Planche III.

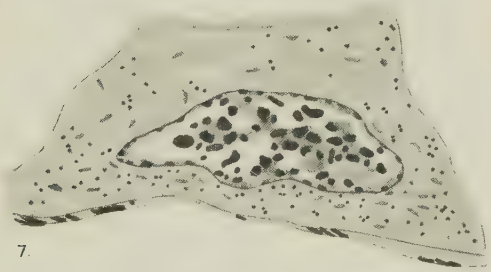
Fig. 6. — *Armadillidium vulgare.* Portion de cytoplasme d'une grande cellule. On voit les ergastoblastes à filament multiple et le chondriome ordinaire. Le dessin a été pris vers la base de la cellule où le chondriome ordinaire est plus abondant et les ergastoblastes en pleine activité de multiplication. (*Fix. Flemm.-Benda; col. Volkonsky; optique : Fl. 100; ocul. comp. 15.*)

Fig. 7. — *Armadillidium vulgare.* Stade initial du développement fonctionnel des cellules. Les ergastoblastes sont rares et à peine perceptibles, le chondriome ordinaire granulaire. (*Fix. Champy; col. Volkonsky. Même optique que dans la figure 6.*)

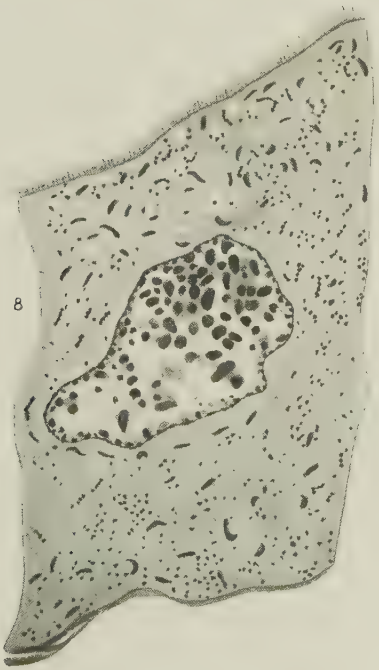
Fig. 8. — *Armadillidium vulgare.* Un stade plus avancé de la croissance des cellules. Dans la région apicale de la cellule, on voit encore des vacuoles restées du cycle sécrétoire précédent. (*Même technique que dans la figure 7.*)



6.



7.



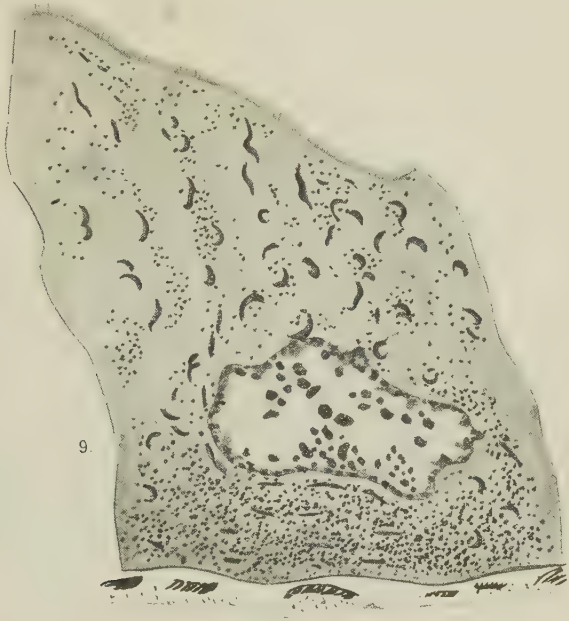
8

MASSON ET C^ie^, ÉDITEURS

Planche IV.

Fig. 9. — *Armadillidium vulgare.* Un autre stade plus avancé encore, du développement des cellules. Les ergastoblastes sont plus nombreux et plus gros que dans le stade précédent. Le chondriome ordinaire très abondant, surtout vers la base des cellules et autour des ergastoblastes. On voit encore des groupes de vacuoles du cycle sécrétoire précédent. *(Même technique que dans la figure 7.)*

Fig. 10. — *Armadillidium vulgare.* La cellule est presque au bout de sa croissance. Les ergastoblastes très abondants, le chondriome ordinaire moins colorable que dans le stade précédent. Il n'y a plus de vacuoles. (*Flemm.-Benda; hématoxyline; optique : même que dans la figure 6.*)



9.

10.

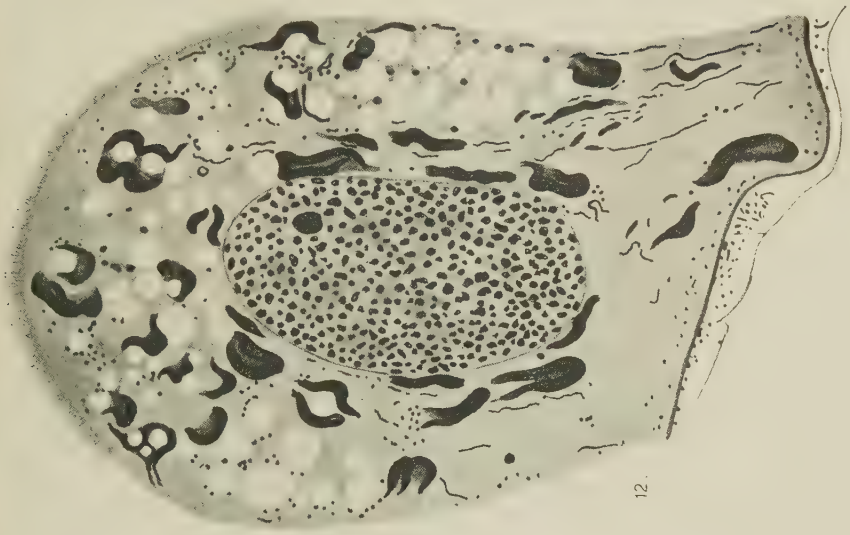
Masson et C^ie^, éditeurs

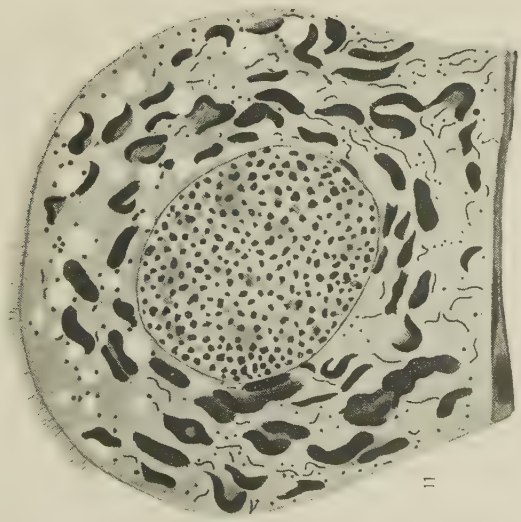
Planche V.

Fig. 11. — *Cylisticus convexus.* Grande cellule. On voit de gros ergastoblastes, le chondriome ordinaire sous la forme de granulations et de longs filaments plus abondants vers la base de la cellule. Un certain nombre de vacuoles vers sa partie apicale. Le phénomène de sécrétion a commencé en même temps que l'apparition des premières vacuoles. *(Fix. Benoit (B. O. S. U.); col. Volkonsky; optique : Fl. 100; ocul. comp. 15.)*

Fig. 12. — *Cylisticus convexus.* Grande cellule. Les phénomènes de sécrétion très active : les vacuoles augmentent en nombre et dimensions, des ergastoblastes disparaissent, d'autres se fragmentent en granulations ou en courts filaments irréguliers, d'autres enfin se divisent. On observe l'apparition des vacuoles dans les concavités des ergastoblastes ou à étroite proximité d'eux. *(Même technique que dans la figure 11.)*

PLANCHE V
(V. Gh. Radu)





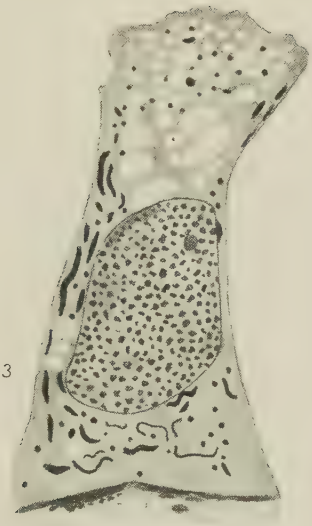
MASSON ET C^ie^, ÉDITEURS

Planche VI.

Fig. 13. — *Cylisticus convexus.* Cellule à la fin de la période d'élaboration. Les ergastoblastes sont peu nombreux et petits, les vacuoles abondantes et, entre elles, de petits fragments d'ergastoblastes. *(Même technique que dans la figure 11.)*

Fig. 14. — *Cylisticus convexus.* Cellule dans la période de croissance (reconstitution). Les ergastoblastes sont abondants, mais très petits. Le chondriome ordinaire abondant, mais très peu visible (peu colorable), sauf les granulations qui se colorent assez bien. Le noyau est en sténose. *(Flemm.-Benda; col. Volkonsky. Même optique que dans la figure 11.)*

13



14.

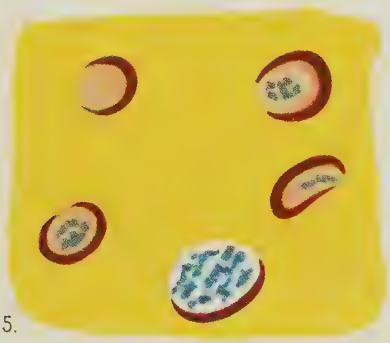
Planche VII.

Fig. 15. — *Armadillidium vulgare.* Portion de cytoplasme d'une grande cellule. On observe le commencement de l'apparition du produit de sécrétion sous la forme de précipité coloré en azur, dans la concavité des ergastoblastes. Dans la concavité de l'un d'entre eux, on voit la présence d'une vacuole qui contient le précipité sécrété. (*Fix. Champy; col. Volkonsky; optique : Fl. 100; ocul. comp. 18.*)

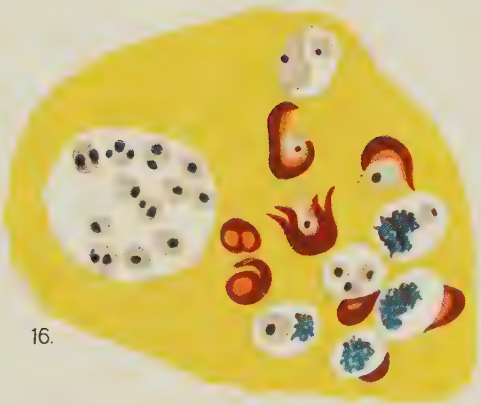
Fig. 16. — *Armadillidium vulgare.* Portion de cytoplasme d'une grande cellule. Quelques-uns des ergastoblastes diminuent de dimensions, perdent leur structure et disparaissent, à côté des vacuoles; d'autres contiennent, dans leurs concavités, des vésicules claires colorées faiblement en rose. Chacune de ces vésicules contient un petit grain fortement coloré en bleu foncé. Quelquefois, on voit plusieurs vésicules au niveau du même ergastoblaste. Il y a des vacuoles qui sont libres dans le cytoplasme et il y en a d'autres qui sont intimement accolées aux ergastoblastes. Dans leur intérieur, on voit soit une masse de précipité coloré en bleu, soit des vésicules roses comme celles qui se trouvent dans la concavité des ergastoblastes, soit enfin du précipité bleu et des vésicules dans la même vacuole. *(Flemm.-Benda; col. Volkonsky. Même optique que dans la figure 15.)*

Fig. 17. — *Armadillidium vulgare.* Portion de cytoplasme d'une grande cellule. Les vacuoles contenant du précipité bleu, très nombreuses. La plupart des ergastoblastes sont en train de disparaître, à côté des vacuoles. (*Dietr.-Parat; col. Volkonsky. Même optique que dans la figure 15.*)

Note. — Dans les figures 15, 16, et 17, le chondriome ordinaire n'a pas été représenté.



15.



16.

17.

MASSON ET C^ie^, ÉDITEURS

LES COLIBACILLES ISOLÉS AU COURS DES PYÉLO-NÉPHRITES GRAVIDIQUES

par

G. CALALB et V.-T. IONESCU

(Travail de l'Institut de Sérologie « Dr J. Cantacuzino » et de la Clinique obstétricale de Bucarest)

Les pyélo-néphrites gravidiques se rencontrent très souvent dans la pratique médicale; leur fréquence, la diversité des formes cliniques, ainsi que l'allure grave qu'elles manifestent quelquefois, ont fixé l'attention de nombreux spécialistes.

Vers les derniers mois de la grossesse ou après l'accouchement, la femme présente de la fièvre avec frisson, des douleurs rénales, des urines concentrées et plus ou moins purulentes. Les ensemencements effectués avec l'urine récoltée par cathétérisme urétral nous relèvent un microbe, le plus souvent un colibacille. Quant à l'origine de l'infection rénale, nous devons signaler que la voie circulatoire, descendante, décrite par Heitz-Boyer sous le nom de syndrome entéro-rénal, est aujourd'hui généralement admise.

Les conditions créées par la grossesse, ainsi que la compression sur le gros intestin, accompagnée de coprostase, la difficulté de la circulation de retour, etc., favorisent un état d'inflammation de la muqueuse intestinale qui cède en dernier lieu, et les microbes présents dans le contenu intestinal arrivent dans le sang. Ils peuvent arriver également dans le courant circulatoire, favorisés par le traumatisme de l'accouchement. L'état septicémique peut durer plus ou moins longtemps, il peut se répéter aussi par des poussées cycliques. Les microbes sont

éliminés de l'organisme par les voies rénales qui ne tardent pas de s'infecter, et la bactériurie, accompagnée le plus souvent de pyurie, apparaît. Nous n'insistons pas sur le mécanisme, les diverses formes cliniques, l'évolution, ainsi que sur le traitement des pyélo-néphrites gravidiques; à ce point de vue, la bibliographie annexée nous donne des renseignements utiles. Notre travail se résume tout spécialement à l'étude bactériologique de l'agent pathogène.

***

Les pyélo-néphrites gravidiques sont provoquées, dans la grande majorité des cas, par le colibacille.

Les nombreux aspects cliniques paraissent être en rapport plutôt avec la susceptibilité individuelle du malade, qu'avec une virulence particulièrement variable de l'agent pathogène. Van Loghem, et plus récemment Anselmi [1], prétendent que les grandes variations rencontrées dans le groupe des colibacilles, surtout au point de vue de l'agglutination, sont dues à l'état saprophytiques de ce germe.

Nous avons récolté le matériel de notre travail, en nous adressant toujours aux cas de maladie où le colibacille provoquait une ascension thermique, accompagnée de réaction leucocytaire ; nous nous sommes mis ainsi à l'abri des objections possibles, et nous avons travaillé dans des conditions techniques presque invariables.

On a examiné, à ce point de vue, 770 femmes gravides, dans le post-partum ou dans les suites de l'avortement, toutes logées à la Clinique obstétricale. L'urine était récoltée aseptiquement, par cathétérisme urétral, et on l'examinait tout de suite. On pratiquait des ensemencements avec la pipette Pasteur, sur gélose-lactosée tournesolée en boîtes de Petri et sur bouillon en tubes. On examinait en même temps les culots de centrifugation des urines pour estimer la fréquence et la nature des éléments cellulaires.

En procédant de cette manière, nous avons constaté que 260 femmes, parmi les 770 examinées, émettaient des urines plus ou moins chargées de globules de pus et dont les ensemencements relevèrent toujours un microbe. Ce qui nous donne 33 % des cas de pyélo-néphrites dans la catégorie des femmes gravides, accouchées, ou dans les suites de l'avortement. Heureusement, le plus

souvent, nous avons affaire à des formes d'intensité moyenne ou à des formes légères qui se résolvent à l'avantage de la malade. Les microbes isolés se répartissent par ordre de fréquence :

	%
Bacilles Gram négatifs dans un pourcentage de (colibacilles dans la grande majorité des cas)	88 »
Entérocoques	3 »
Bacilles pyocianiques	2,50
Bacilles Gram négatifs et entérocoques	1,50
Staphylocoques	1,50
Streptocoques	1,25
Bacilles Gram positifs	1 »
Diplocoque de Neisser	0,75
Tétragènes	0,50

En examinant le tableau ci-dessus, nous constatons que 88 % des cas de pyélo-néphrites gravidiques reconnaissent comme agent pathogène un bacille Gram négatif, presque toujours le colibacille. L'entérocoque, le staphylocoque, le streptocoque, le gonocoque, etc., se rencontrent assez rarement. Nous répétons toujours le cathétérisme urétral, ainsi que l'examen des urines, dans tous les cas où les ensemencements nous révèlent la présence d'un staphylocoque.

***

En vue de nos recherches sur les colibacilles, nous avons conservé 88 souches de bacilles Gram négatifs, mobiles, isolés, ainsi que nous venons de le dire dans le chapitre précédent, des cas de pyélo-néphrites. Parmi ces dernières, nous avons rencontré 2 souches de bacilles pyocianiques, 2 souches de bacilles fecalis-alcalinigenes et 84 souches de colibacilles.

En abordant leur étude, nous omettons volontairement un passage sur l'histoire de la question, qui serait très long et peut-être exempt d'intérêt, du moment qu'un nombre assez considérable de notes bibliographiques nous en fait part. Disons tout de même que la confusion règne encore au point de vue d'une classification rationnelles des diverses races de bacilles colis connues. On a tenté des classifications basées sur les réactions fermentatives sur les sucres; nous avons aujourd'hui pas moins d'une dizaine de pareilles classifications qui se disputent entre elles la place des diverses races de colibacilles. L'activité hémolytique des coli-

bacilles ne pouvait non plus à elle seule déterminer une base de classification. Enfin, tout récemment, les efforts en vue d'une classification dans le domaine si vaste du colibacille se concentrent sur les propriétés toxiques et pathogènes de ces germes.

Nous allons exposer nos observations personnelles se rapportant surtout aux caractères biochimiques des colibacilles, ainsi qu'à leurs propriétés antigéniques. Nous essaierons d'établir, si cela est possible, les quelques liens de parenté entre diverses races de colibacilles.

Nous ne toucherons pas, dans ce travail, le chapitre, si intéressant d'ailleurs, se rapportant aux propriétés toxiques et pathogéniques des colibacilles qui mirent au jour, grâce aux travaux de Vincent, la sérothérapie anti-colibacillaire.

Morphologie. — L'aspect microscopique des colibacilles est variable; nous avons rencontré des formes courtes et minces, trapues, filamenteuses, cocobacillaires.

Colorabilité. — Ils se décolorent par la méthode de Gram et présentent souvent une coloration bipolaire.

Ils ne forment pas des spores.

Mobilité. — Nous avons mis en évidence une mobilité plus ou moins marquée pour toutes nos souches microbiennes, bien entendu dans des cultures fraîches en milieu liquide. Nous n'avons employé aucune méthode de coloration des cils.

Cultures abondantes sur tous les milieux de culture usuels. Généralement, pas de voiles sur les milieux liquides.

PROPRIÉTÉS BIOCHIMIQUES

Action sur les sucres. — Pour mettre en évidence les propriétés fermentatives de nos souches, nous les avons cultivées sur le milieu de Barsiekow. On a soin d'ajuster toujours le *p*H du milieu à 7,3, conditions indispensable pour enregistrer les moindres traces d'acide.

Sucres expérimentés : mannite, maltose, saccharose, lactose, dulcite.

En examinant le tableau I, nous constatons que les deux souches de bacilles pyocianiques (27, 32) et les deux fecalis-alcalinigenes (34, 87) ne fermentent aucun sucre et ne produisent pas d'indol. Les bacilles pyocianiques produisent le pigment vert, caractéristique.

TABLEAU I

Souches	Milieu de Barsiekow					Indol
	Mannite	Maltose	Saccharose	Lactose	Dulcite	
Nos 1	±	+	+	+	±	+
» 2	±	+	+	+	0	+
» 3	+	+	+	+	±	+
» 4	0	+	+	0	0	+
» 5	+	+	+	+	0	++
» 6	+	+	+	+	+	+
» 7	+	+	+	+	±	+
» 8	+	+	+	+	±	+
» 10	+	+	0	+	0	+
» 11	+	+	+	+	±	+
» 12	+	+	+	+	0	0
» 13	+	+	+	+	±	+
» 15	+	+	0	+	0	+
» 18	+	+	+	+	0	0
» 20	+	+	+	+	0	++
» 21	+	+	0	+	0	+
» 22	+	+	+	+	0	++
» 23	+	+	+	+	±	++
» 24	+	+	+	+	0	+
» 25	+	+	+	+	0	+
» 26	+	+	0	+	0	+
» 27	0	0	0	0	0	0
» 29	+	+	+	0	0	+
» 30	+	+	+	+	0	+
» 32	D	D	D	D	D	0
» 33	+	+	0	+	+	+
» 34	0	0	0	0	0	0
» 35	+	+	0	+	+	+
» 36	+	+	0	+	0	+
» 37	+	+	0	+	0	+
» 38	+	+	0	+	+	+
» 41	+	+	+	+	0	0
» 42	+	+	0	+	0	++
» 43	+	+	+	+	0	0
» 44	+	+	0	+	0	++
» 45	+	+	+	+	±	+
» 46	+	+	+	+	+	++
» 47	+	+	+	+	+	++
» 49	+	+	+	+	0	+
» 50	+	+	0	+	0	+
» 51	+	+	+	+	+	+
» 52	+	+	0	+	0	++
» 53	+	+	0	+	0	++
» 34	0	+	+	0	0	+
» 55	+	+	+	+	+	0

D = décoloré.

TABLEAU I (*suite*)

Souches	Milieu de Barsiekow					Indol
	Mannite	Maltose	Saccharose	Lactose	Dulcite	
N^os 56	+	+	0	+	0	++
» 57	0	+	0	0	0	0
» 59	+	+	0	+	0	+
» 60	+	+	0	+	−	++
» 61	+	+	+	+	−	++
» 62	+	+	+	+	0	+
» 63	0	0	0	0	0	+
» 64	+	+	0	+	±	±
» 65	+	+	+	+	+	+
» 66	0	0	+	0	0	0
» 67	+	+	0	+	+	±
» 69	+	+	0	+	±	−+
» 70	+	+	+	+	0	++
» 72	+	+	0	+	0	++
» 73	+	+	0	+	0	+
» 75	+	+	+	+	0	+
» 76	0	+	0	0	0	0
» 77	+	+	+	+	0	+
» 78	+	+	+	0	0	+
» 79	+	+	0	+	0	+
» 80	+	+	0	+	0	+
» 81	+	+	0	+	0	+
» 82	+	+	+	+	+	+
» 83	+	+	0	+	+	+
» 84	+	+	+	+	0	+
» 85	+	+	+	+	0	+
» 86	+	+	0	+	0	+
» 87	0	0	0	0	0	0
» 88	+	+	+	+	+	++
» 89	+	+	0	0	0	+
» 90	0	0	0	0	0	+
» 91	+	+	0	+	0	+
» 92	+	+	+	+	0	+
» 93	+	+	+	+	0	0
» 94	+	+	0	0	0	+
» 96	+	+	0	+	+	+
» 98	+	+	+	+	0	+
» 100	+	+	+	+	0	++
» 101	0	+	+	0	0	0
» 104	+	+	0	+	0	++
» 107	+	+	+	+	0	0
» 114	+	+	+	+	−	+
» 115	+	+	+	+	−	+

Les 84 souches de colibacilles se répartissent, au point de vue des réactions fermentatives, en 5 lots :

19 souches (n^{os} 1, 3, 6, 7, 8, 11, 13, 23, 45, 46, 47, 51, 55, 61, 65, 82, 88, 114, 115) qui fermentent toute la série des sucres expérimentés : mannite, maltose, saccharose, lactose et dulcite.

8 souches (n^{os} 33, 35, 38, 64, 67, 69, 83, 96) qui fermentent toute la série des sucres, excepté la saccharose.

23 souches (n^{os} 2, 5, 12, 18, 20, 22, 24, 25, 30, 41, 43, 49, 62, 70, 75, 77, 84, 85, 92, 93, 98, 100, 107) qui fermentent toute la série des sucres, excepté la dulcite.

22 souches (n^{os} 10, 15, 21, 26, 36, 37, 42, 44, 50, 52, 53, 56, 59, 60, 72, 73, 79, 80, 81, 86, 91, 104) qui fermentent la mannite, la maltose, la lactose, laissant indemnes la saccharose et la dulcite.

12 souches (n^{os} 4, 29, 54, 57, 63, 66, 76, 78, 89, 90, 94, 101) qui ont le caractère commun de ne pas fermenter la lactose.

Si nous nous rapportons à l'une des classifications connues des colibacilles, basée sur les réactions fermentatives, nous constatons que les quatre premiers groupes sont parfaitement superposables à la classification de Mac Conkey (46-48) :

19 souches à bacilles coli communior (type 3).
8 — — — communis (— 2).
23 — — lactis-aerogenes (— 4).
22 — — acidi-lactici (— 1).

En acceptant cette classification, nous répartissons 72 de nos souches de colibacilles, ce qui donne un pourcentage de 85. Il nous restait la dernière de nos catégories, les 12 souches (14 %) qui ne fermentent pas la lactose, et que nous incorporons dans le groupe des bacilles Paracoli. Parmi ces derniers, nous rencontrons des types variables au point de vue de leur action fermentative sur la mannite, la maltose, la saccharose et la dulcite; ils gardent pourtant le caractère commun de ne pas attaquer la lactose.

En résumant, nous faisons remarquer que les cinq groupes mentionnés incorporent la totalité de nos 84 souches de colibacilles, et peuvent par conséquent servir de base à une classification biochimique.

Production d'indol. — L'indol est mis en évidence dans des cultures en eau peptonée, âgées de quatre à cinq jours. Les réactifs de Salkowski et celui d'Ehrlich sont employés comparativement. Dans ces conditions, la majorité des colibacilles produisent l'indol. Les souches anindologènes, au nombre de 7, se répartissent ainsi :

N^{os} 12, 18, 41, 43, 93, 107, du type lactis-aerogenes (race B^{2} de Besson, anindologène), et n° 55, du type Coli communior.

Le groupe des bacilles paracoli contient aussi 4 souches anindologènes (n^{os} 57, 66, 76 et 101).

PROPRIÉTÉS HÉMOLYTIQUES

Pour rechercher les propriétés hémolytiques des colibacilles, nous nous sommes servis de la technique suivante :

8 centimètres cubes de bouillon en tubes sont additionnés de 2 centimètres cubes de globules rouges, lavés, rapportés au volume initial, avec sérum physiologique. Une série de tubes sont préparés avec des globules rouges de mouton, une autre avec des globules rouges d'homme. Nous ensemençons chaque souche microbienne sur les deux tubes différents, et nous les examinons pendant quelques jours au thermostat.

Dans les conditions décrites, les souches n^{os} 6, 7, 11, 12, 18, 26, 30, 54, 57, 61, 70, 100, 101, se sont montrées hémolytiques en même temps pour les globules rouges de mouton, ainsi que pour ceux de provenance humaine.

Les souches n^{os} 3, 20, 25, 56, 60, 67, 73, 76, 84, 104, développent une activité lytique très faible et se limitent exclusivement aux globules rouges provenant de l'homme.

Parmi les 72 souches de colibacilles, 10 (n^{os} 6, 7, 11, 12, 18, 26, 30, 61, 70, 100), ce qui donne 13,8 %, manifestent des propriétés hémolytiques nettes intéressant à la fois les deux catégories de globules rouges; 9 autres souches (n^{os} 3, 20, 25, 56, 60, 67, 73, 84, 104) (12,5 %) montrent une action très réduite seulement pour les globules rouges humains. Mentionnons 3 paracolibacilles hémolytiques (n^{os} 54, 57, 76).

Si nous nous rapportons aux groupements imposés par les réactions fermentatives sur les sucres, nous constatons que les souches hémolytiques se répartissent sans prédilection manifeste, parmi 4 des 5 groupes; la catégorie des coli communis ne contient aucune souche nettement hémolytique, mais elle est représentée seulement par 8 échantillons en total.

PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES

Réaction d'agglutination. — Les sérums agglutinants sont préparés sur des lapins, qui reçoivent des cultures de vingt-quatre heures sur gélose inclinée, émulsionnée avec du sérum physiologique.

Voici le protocole d'immunisation :

I^er^ jour : culture tuée par chauffage (1 heure à 60°), 1/50^e^ tube, voie intra-péritonéale.
IV^e^ jour : culture tuée par chauffage (1 heure à 60°), 1/50^e^ tube, voie intra-veineuse.
VII^e^ jour : culture vivante, 1/100^e^ tube, voie intra-veineuse.
IX^e^ jour : culture vivante, 1/50^e^ tube, voie intra-veineuse.
XI^e^ jour : culture vivante, 1/10^e^ tube, voie intra-veineuse.
XXI^e^ jour : saignée à blanc.

En nous servant de cette méthode d'immunisation, nous avons obtenu 5 sérums, anti-souches 20, 50, 55, 57, 90. En même temps et en suivant le même protocole, nous avons préparé un deuxième lot de lapins en employant comme antigènes des endoprotéines microbiennes.

Les cultures microbiennes obtenues sur gélose en plaques de Roux sont émulsionnées avec du sérum physiologique, desséchées à l'excitatoire et broyées dans un mortier d'agathe. On prépare l'endoprotéine en broyant 10 centigrammes de corps microbiens, pendant une heure, en ajoutant goutte à goutte 10 centimètres cubes de sérum physiologique. On garde le broyage pendant vingt-quatre heures à la glacière, et on décante ensuite. Le liquide opalescent qu'on obtient est employé comme antigène, en injectant aux lapins des doses croissantes (0,1 - 1 cc.). Nous avons obtenu ainsi des immuns-sérums anti-souches 20, 50, 90. Toutes nos 88 souches microbiennes ont été agglutinées avec les 8 immuns-sérums mentionnés.

Les sérums agglutinants sont dilués avec du sérum physiologique à 8,5 ‰. L'antigène microbien est préparé en partant de cultures de vingt-quatre heures sur gélose, qu'on émulsionne, en ajoutant quelques centimètres cubes du même sérum physiologique. Chaque tube de réaction, qui contient 1 centimètre cube de la dilution d'immun-sérum, reçoit une goutte de la suspension microbienne. Après agitation, on garde les tubes pendant trois heures au thermostat; on note ensuite les résultats que nous contrôlons encore le jour suivant (séjour sur la table de laboratoire).

TABLEAU II

Souches	Sérum agglutinant anti-microbien Souche n° 20			Sérum agglutinant anti-endoprotéine Souche n° 20			Sérum agglutinant anti-microbien Souche n° 50			Sérum agglutinant anti-endoprotéine Souche n° 50		
	1/100	1/500	1/1000	1/100	1/500	1/1000	1/100	1/500	1/1000	1/100	1/500	1/1000
N°s 1.	0	0	0	++	0	0	0	0	0	0	0	0
» 2.	0	0	0	++	+	0	0	0	0	0	0	0
» 3.	0	0	0	++	0	0	0	0	0	0	0	0
» 4.	++	++	+	++	0	0	0	0	0	++	+	0
» 5.	+	0	0	+	0	0	+	0	0	A.	S.	
» 6.	0	0	0	+	0	0	0	0	0	A.	S.	
» 7.	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0
» 8.	+	+	0	++	0	0	0	0	0	++	+	0
» 10.	+	0	0	++	0	0	0	0	0	0	0	0
» 11.	++	0	0	++	0	0	0	0	0	+++	++	++
» 12.	0	0	0	±	0	0	0	0	0	0	0	0
» 13.	0	0	0	+	0	0	0	0	0	+	0	0
» 15.	0	0	0	++	0	0	0	0	0	0	0	0
» 18.	+	0	0	++	±	0	0	0	0	+	0	0
» 20.	+++	+++	++	++++	++	++	0	0	0	++	+	0
» 21.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
» 22.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0	0
» 23.	0	0	0	+	0	0	+	0	0	0	0	0
» 24.	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0
» 25.	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0
» 26.	0	0	0	++	0	0	0	0	0	+	0	0
» 27.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
» 29.	0	0	0	A.	S.		0	0	0	0	0	0
» 30.	0	0	0	+	0	0	0	0	0	+	0	0
» 32.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
» 33.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	A.	S.	
» 34.	A.	S.		0	0	0	0	0	0	0	0	0
» 35.	+	0	0	A.	S.		++	+	0	++	+	+
» 36.	0	0	0	A.	S.		0	0	0	A.	S.	
» 37.	+	0	0	+	0	0	++	+	0	+	+	0
» 38.	0	0	0	++	0	0	0	0	0	A.	S.	
» 41.	+	0	0	A.	S.		A.	S.		0	0	0
» 42.	+	0	0	++	0	0	+	0	0	+	0	0
» 43.	0	0	0	A	S.		++	+	0	0	0	0
» 44.	0	0	0	A	S		+	0	0	++	0	0
» 45.	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0
» 46.	+	0	0	++	0	0	++	+	0	++	0	0
» 47.	0	0	0	+++	+	0	++	+	+	+	0	0
» 49.	0	0	0	+	0	0	0	0	0	A.	S.	
» 50.	0	0	0	A.	S		++	+	+	A	S.	
» 51.	0	0	0	++	0	0	0	0	0	0	0	0
» 52.	0	0	0	++	0	0	0	0	0	±	0	0
» 53.	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0
» 54.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

A. S. — Agglutination spontanée.

Sérum agglutinant anti-microbien Souche n° 90			Sérum agglutinant anti-endoprotéine Souche n° 90			Sérum agglutinant anti-microbien Souche n° 55			Sérum agglutinant anti-microbien Souche n° 57		
0	1/500	1/1000	1/100	1/500	1/1000	1/100	1/500	1 1000	1/100	1/500	1/1000
	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	A.		S.	0	0	0	0	0	0
	0	0	+	0	0	+	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	+	+	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	0
	0	0	±	0	0	+	0	0	+	0	0
	0	0	+	+	0	+	+	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	+	0	0	+	0	0
	0	0	++	+	0	+	0	0	+	+	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	+	0	0	+	0	0	−	−	−
	0	0	++	+	+	++	++	+	0	0	0
	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	±	0	0	+	+	+	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	±	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	+	±	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	+	0	+	0	0	0	0	0	+	0	0
	0	0	0	0	0	+	0	0	+	0	0
	0	0	+	0	0	++	+	0	0	0	0
	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	+	0	0	+	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	+	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	+	0	0	+	+	0	+	+	0
	0	0	+	0	0	0	0	0	+	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
A.		S.	A.		S.	0	0	0	0	0	0
	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	++	±	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	A.		S.	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	+++	++	++

TABLEAU II (*suite*)

Souches	Sérum agglutinant anti-microbien Souche n° 20			Sérum agglutinal anti-endoprotéine Souche n° 20			Sérum agglutinant anti-microbien Souche n° 50			Sérum agglutinant anti-endoprotéine Souche n° 50		
	1/100	1/500	1/1000	1/100	1/500	1/1000	1/100	1/500	1/1000	1/100	1/500	1/1000
N°s 55.	+	0	0	++	0	0	+	0	0	A.		S.
» 56.	+	0	0	+	0	0	0	0	0	+	0	0
» 57.	0	0	0	±	0	0	+	0	0	0	0	0
» 59.	0	0	0	++	0	0	0	0	0	0	0	0
» 60.	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0
» 61.	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0
» 62.	0	0	0	++	0	0	0	0	0	A.		S.
» 63.	0	0	0	±	0	0	+	+	0	+	0	0
» 64.	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0
» 65.	+	+	0	±	0	0	+	+	0	A.		S.
» 66.	+	0	0	+	0	0	0	0	0	A.		S.
» 67.	0	0	0	++	0	0	0	0	0	0	0	0
» 69.	++	+	0	+	0	0	+	+	0	A.		S.
» 70.	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0
» 72.	+++	++	+	+	0	0	+	0	0	+	0	0
» 73.	0	0	0	+	0	0	+	0	0	0	0	0
» 75.	0	0	0	±	0	0	+	+	0	0	0	0
» 76.	0	0	0	+	0	0	0	0	0	++	+	0
» 77.	+	0	0	++	0	0	++	+	0	+	+	0
» 78.	+	0	0	±	0	0	0	0	0	+	0	0
» 79.	++	+	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0
» 80.	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0
» 81.	0	0	0	+	0	0	0	0	0	+	0	0
» 82.	0	0	0	A.		S.	+	0	0	0	0	0
» 83.	A.		S.	A.		S.	+	0	0	0	0	0
» 84.	0	0	0	++	0	0	0	0	0	0	0	6
» 85.	0	0	0	−	−	−	0	0	0	−	−	−
» 86.	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0
» 87.	0	0	0	A.		S.	0	0	0	A.		S.
» 88.	0	0	0	A.		S.	+	0	0	0	0	0
» 89.	0	0	0	±	0	0	0	0	0	0	0	0
» 90.	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0
» 91.	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0
» 92.	0	0	0	++	+	0	+	0	0	+	0	0
» 93.	0	0	0	A.		S.	0	0	0	0	0	0
» 94.	+	0	0	±	0	0	0	0	0	0	0	0
» 96.	++	+	+	+	0	0	+	+	+	+	0	0
» 98.	+	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0
» 100.	+	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0	0
» 101.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0	0
» 104.	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0
» 107.	++	0	0	±	0	0	0	0	0	+	0	0
» 114.	−	−	−	+	0	0	−	−	−	+	+	0
» 115.	−	−		++	0	0	−	−	−	++	++	0

Sérum agglutinant anti-microbien Souche n° 90			Sérum agglutinant anti-endoprotéine Souche n° 90			Sérum agglutinant anti-microbien Souche n° 55			Sérum agglutinant anti-microbien Souche n° 57		
1/100	1/500	1/1000	1/100	1/500	1/1000	1/100	1/500	1/1000	1/100	1/500	1/1000
+	0	0	±	0	0	+++	+++	++	0	0	0
0	0	0	±	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	+++	+++	+++
0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	+	+	0	+	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	++	+	+	0	0	0
0	0	0	A.		S.	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	+++	+	+	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+
+	0	0	+	0	0	+	0	0	0	0	0
+	+	0	+	±	0	0	0	0	+	0	0
+	0	0	0	0	0	+	+	0	0	0	0
+	0	0	+	±	0	+	0	0	+++	+	0
0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	±	0	0	+	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	+	+	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
+	0	0	−	−	−	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
+	+	0	A.		S.	−	−	−	0	0	0
0	0	0	0	0	0	++	0	0	0	0	0
++	++	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	+	+	+	0	0	0	0	0	0
+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	+-	+	+	+	+	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
+	+	+	+	+	0	++	+	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
+	0	0	+	0	0	0	0	0	+	0	0
++	0	0	±	0	0	0	0	0	+	+	0
0	0	0	±	0	0	+	+	0	0	0	0
0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0
−	−	−	++	+	0	−	−	−	−	−	−
−	−	−	++	+	0	−	−	−	−	−	−

En parcourant le tableau II, nous constatons dès le commencement que « l'agglutination spontanée », agglutination apparaissant dans une suspension microbienne en sérum physiologique exempte de toute trace d'immun-sérum, se rencontre quelquefois; parmi les 70 groupes de réactions, contenues dans ce tableau, nous obtenons 33 agglutinations spontanées. Ces expériences, intéressant un total de presque 3000 tubes, ont été exécutées au cours de 8 séances, pendant l'intervalle d'un mois. On effectuait au cours d'une séance l'agglutination de toutes les souches microbiennes, vis-à-vis d'un seul immun-sérum. Nous remarquons qu'un même colibacille est spontanément agglutiné, au cours de plusieurs séances (n^{os} 36, 41, 50, etc.), sans que cela soit la règle. Il est fort probable que nos souches subissent, pendant les repiquages effectués d'une séance à l'autre, des modifications qui tiennent à des conditions culturales que nous ne pouvons pas préciser, et qui expliquent l'instabilité de l'apparition de l'agglutination spontanée.

Nous n'avons pas entrepris des recherches spéciales en vue d'expliquer le mécanisme de ce phénomène, qui, dans les conditions de nos expériences (sérum physiologique à 8,5 ‰), apparaît quelquefois, sans nous empêcher pourtant dans la pratique des réactions.

Nous avons observé souvent que les souches de colibacilles qui se prêtent au phénomène de l'agglutination spontanée sont aussi capables de fournir un antigène fixant, par sa présence, l'alexine dans des concentrations très voisines de la dose utilisable. (L'écart entre la limite supérieure et la limite inférieure de l'antigène est très réduit.)

Si nous nous rapportons aux titres agglutinants de nos immuns-sérums, soit anti-microbiens ou anti-endoprotéiniques, nous constatons qu'ils montent à 1/2000^{e}-1/4000^{e}. Nous avons enregistré pourtant une exception avec la souche n° 76, qui nous a fourni un immun-sérum agglutinant à peine, jusque dans la dilution de 1/100^{e}, la souche homologue. Ce même sérum, que nous n'avons pas mentionné dans nos tableaux, présentait, en outre, une remarquable propriété anti-complémentaire, qui le rendait tout à fait impropre aux réactions de fixation du complément.

En comparant l'activité agglutinante des sérums anti-microbiens et anti-endoprotéiniques, vis-à-vis des souches hétérologues, nous pouvons affirmer, en nous rapportant surtout aux sérums anti-souches 20, que les immuns-sérums préparés avec

l'endoprotéine microbienne manifestent une action agglutinante plus marquée, et répandue sur un lot beaucoup plus nombreux de colibacilles.

Les colibacilles hémolytiques paraissent former un groupe sérologique assez distinct : ainsi, le sérum agglutinant 57, préparé en immunisant le lapin avec la souche hémolytique n° 57, agglutine 8 des 13 souches hémolytiques. Malgré les réactions fermentatives tout à fait différentes, 61 % des colibacilles hémolytiques se groupent au point de vue sérologique; nous nous rallions, par ces constatations, aux opinions déjà exprimées par Dudgeon, Wordley et Bawtree [15], Meyer et Lowenberg [52], qui affirment aussi cette relation.

On peut établir aussi une certaine relation sérologique entre les souches hémolytiques et non hémolytiques, en considérant que le sérum 57 agglutine quelques souches non hémolytiques (10, 35, 36, 46, 47, 73, 77, 92), et presque toutes les souches hémolytiques sont en même temps agglutinées par les immuns-sérums (20, 50, 90, 55) préparés avec des souches non hémolytiques. Les groupes de colibacilles, établis d'après les caractères fermentatifs sur les sucres, ne correspondent pas du tout avec les données des agglutinations.

Voici quelques exemples : la souche n° 11, coli communior, est agglutinée à un titre beaucoup plus élevé, par n'importe quel des immuns-sérums 20 (anti-lactis-aerogenes), 50 (anti-acidi-lactici), 90 (anti-paracoli), que par l'immun-sérum 55, préparé avec un coli communior. Les souches n^{os} 3, 13, 45, 47, 51, 65, encore des coli communior au point de vue des fermentations sur les sucres, ne sont nullement agglutinées par l'immun-sérum 55.

Des 8 souches de bacilles coli communis (n^{os} 33, 35, 38, 64, 67, 69, 83, 96), exception faite la souche 33, toutes sont agglutinées par un ou plusieurs immuns-sérums.

Les 23 souches lactis-aerogenes (excepté la souche n° 93) sont agglutinées dans les mêmes conditions. La souche n° 2 est agglutinée uniquement par l'immun-sérum 20, anti-lactis-aerogenes, mais c'est une exception; toutes les autres se comportent, au point de vue sérologique, tout à fait indépendantes des classifications biochimiques.

Les 22 souches de bacilles acidi-lactici agglutinaient avec prédilection par les immuns-sérums anti-acidi-lactici et anti-lactis-aeorogenes (50 et 20).

Les bacilles paracoli, au nombre de 12, montrent le même manque de parallélisme entre les groupements basés sur les

réactions biochimiques, et les résultats des agglutinations. On peut néanmoins établir une parenté sérologique à l'intérieur du groupe; ainsi l'immun-sérum 90 agglutine les souches n^{os} 4, 78, 101; l'immun-sérum 57, les souches n^{os} 17, 54, 101.

Quant à leur rapport sérologique avec les colibacilles, nous constatons que la majorité des paracolibacilles sont agglutinés par un ou plusieurs sérums anti-coli. Ainsi l'immun-sérum 20 agglutine les paracoli n^{os} 4, 39, 66, 68, 76, 78, 90, 94; l'immun-sérum 50, les souches n^{os} 4, 57, 63, 68, 76, 78, 101. Du total des 12 souches de paracolibacilles, les n^{os} 29 et 89 se sont montrés exceptionnellement inagglutinables vis-à-vis de tous les immuns-sérums que nous avons eus à notre disposition. Les immuns-sérums anti-paracoli 90 et 57 agglutinent eux aussi quelques-unes des souches de bacilles coli typiques.

En terminant la lecture du tableau des agglutinations, nous remarquons que les deux souches de bacilles pyocianiques, ainsi que les 2 fecalis-alcaligenes, ne sont agglutinées par aucun des immuns-sérums.

Nous trouvons cette dernière constatation importante au point de vue de la spécificité des réactions; en effet, les sérums agglutinants anti-coli manifestent une action nette sur les souches homologues, en les agglutinant jusqu'à un titre élevé (1/2000^{e}-1/4000^{e}), et une action beaucoup plus réduite sur les souches hétérologues, qui sont agglutinées le plus souvent à des dilutions basses (1/100^{e}-1/500^{e}). La pratique nous a démontré, pourtant, que nous pouvons considérer ces dernières réactions positives, sans craindre au point de vue de leur spécificité.

Nous serons toujours avertis, alors que nous désirons identifier un colibacille par agglutination, qu'il faut employer plusieurs immuns-sérums correspondant à des colibacilles différents au point de vue de leur origine, ainsi qu'au point de vue de leurs réactions biochimiques, et qu'une réaction d'agglutination positive, se limitant aux dilutions de 1/100^{e}-1/500^{e}, doit être prise en considération.

Réaction de fixation du complément. — Les immuns-sérums (anti-souches 20, 55, 82, 90, 107), employés dans la réaction de fixation du complément, sont obtenus en utilisant la même méthode que pour les sérums anti-microbiens dont nous nous sommes servis dans les réactions d'agglutination.

Les antigènes microbiens sont préparés en suivant la technique que nous avons employée pour obtenir l'endoprotéine :

0,05 ctgr. de corps microbiens desséchés, broyés pendant une demi-heure dans le mortier d'agathe, en ajoutant goutte à goutte 10 centimètres cubes d'eau physiologique. Après vingt-quatre heures à 0°, on décante en retenant le liquide opalescent qui constitue l'antigène.

Titrage de l'antigène : Nous répartissons, dans une série de tubes, 0,05, 0,1, 0,2, 0,3, 0,4 cc., etc., d'antigène; nous ajoutons l'alexine (dose établie par titration préalable); nous rapportons au volume de 1,5 cc. en ajoutant du sérum physiologique; nous agitons et portons les tubes à 37° pendant quarante-cinq minutes. On répartit ensuite le système hémolytique, à raison de 1 centimètre cube par tube, agitation et séjour de quinze minutes à 37°. On établit la limite supérieure de notre antigène, en considérant le premier tube qui commence à fixer l'alexine.

Nous avons toujours employé, dans la réaction de fixation du complément, une dose d'antigène égale à 1/3 de la dose limite supérieure.

La limite inférieure de l'antigène ne pouvait être fixée, du moment que cette opération nécessitait la présence d'un immunsérum « sûrement positif », que nous ne rencontrons pas à loisir parmi les sérums anticoli. En fixant comme dose utilisable dans la réaction 1/3 de la dose limite supérieure, nous avons admis la dose optima au point de vue de la limite inférieure, en nous gardant en même temps des fixations non spécifiques.

Schéma de la réaction :

I. Tube : 0,2 cc. antigène + 0,2 sérum + X alexine + X sérum physiologique + 1 cc. système hémolytique (tube réaction).
II. Tube : 0,4 cc. antigène + X alexine + X sérum physiologique + 1 cc. système hémolytique (tube témoin antigène).
III. Tube : 0,3 sérum + X alexine + X sérum physiologique + 1 cc. système hémolytique (tube témoin sérum).
IV. Tube : 0,2 cc. antigène + X alexine + X sérum physiologique + 1 cc. système hémolytique (tube témoin alexine).
V. Tube : 0,2 cc. antigène + X sérum physiologique + 1 cc. système hémolytique (tube témoin, système hémolytique).

Le sérum est inactivé pendant vingt minutes à 56°.

L'alexine diluée à 1/10e est titrée en rapport du système hémolytique.

Le système hémolytique : sérum hémolytique anti-mouton, dilué à 1/4 du titre, additionné dans une proportion de 5 % de globules rouges de mouton (sang défibriné, centrifugé, lavé, rapporté au volume initial).

Sérum physiologique à 8,5 ‰.

TABLEAU III

Antigène / Souches	Sérum immun-anti-souche n° 20		Sérum immun-anti-souche n° 107		Sérum immun-anti-souche n° 82		Sérum immun-anti-souche n° 55		Sérum immun-anti-souche n° 90		Sérum immun-anti-coli polyvalent (curatif)	
	Tube réaction	Témoin antigène	Tube réaction	Témoin antigène	Tube réaction	Témoin antigène	Tube réaction	Témoin antigène	Tube réaction	Témoin antigène	Tube réaction	Témoin antigène
Nos 1.	+++	0	+++	0	+++	0	+++	0	++	0	—	—
» 2.	++	0	++	0	+++	0	+++	0	+	0	—	—
» 3.	+	0	+++	0	±	0	0	0	++	+	—	—
» 4.	++	0	+	0	±	++	0	0	0	0	—	—
» 5.	+++	0	+++	0	+++	0	+++	0	+	0	—	—
» 6.	+	0	±	0	0	0	0	0	0	0	—	—
» 7.	0	0	±	0	0	±	0	0	0	0	—	—
» 8.	+++	0	++	0	+++	0	++	++	+	+	—	—
» 10.	+++	0	++	0	+++	0	+++	0	+	0	—	—
» 13.	+++	0	+++	0	0	0	—	—	+++	0	—	—
» 15.	±	0	++	0	++	0	—	—	0	0	—	—
» 20.	+++	0	+	0	0	0	—	—	0	0	—	—
» 22.	0	0	+	+	0	+	—	—	0	+	—	—
» 23.	0	0	+++	0	0	0	—	—	+	0	—	—
» 24.	0	0	0	0	+	0	—	—	0	0	—	—
» 25.	0	0	0	0	++	0	—	—	0	0	—	—
» 26.	0	+	0	0	0	0	—	—	0	0	—	—
» 27.	0	0	0	0	0	0	—	—	0	0	—	—
» 29.	0	+	0	+	0	0	—	—	0	0	—	—
» 30.	0	0	0	0	0	0	—	—	0	0	—	—
» 32.	0	0	0	0	0	0	—	—	0	0	—	—
» 33.	0	0	++	0	+	0	—	—	0	0	—	—
» 34.	0	+	0	+	0	+	—	—	0	+	—	—
» 35.	0	0	+	0	0	0	—	—	0	0	—	—
» 36.	0	0	0	0	0	0	—	—	0	0	—	—
» 37.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	—	—
» 38.	+	0	+++	0	+++	0	+++	0	0	0	—	—
» 39.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	—	—
» 41.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	—	—
» 42.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	—	—
» 43.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	—	—
» 44.	0	0	+++	0	0	0	++	0	±	0	—	—
» 45.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	—	—
» 46.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	—	—
» 47.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	—	—
» 49.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	—	—
» 50.	++	0	+	0	+	0	±	0	0	0	—	—
» 51.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	—	—
» 52.	0	0	±	0	0	0	0	0	0	0	—	—
» 53.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	—	—
» 54.	0	0	0	0	0	0	0	0	—	—	—	—
» 55.	0	0	+	0	0	0	—	—	—	—	—	—
» 56.	0	0	0	0	0	0	0	0	—	—	—	—
» 57.	0	0	0	0	0	0	0	0	—	—	—	—
» 90.	+++	0	+++	0	+++	0	+++	0	+++	0	+	0
» 96.	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0
» 98.	++	0	+++	0	+++	0	+++	0	+	0	+++	0
» 100.	0	0	0	0	0	0	+++	0	0	0	+++	0
» 101.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
» 104.	+	0	++	0	++	0	±	0	+	0	+++	0
» 107.	+	0	+++	0	0	0	0	0	+	0	0	0
» 114.	+++	0	+++	0	++	0	+	0	+	0	++	0
» 115.	++	0	+++	0	0	0	0	0	+	0	±	0

La technique indiquée, surtout en ce qui concerne la préparation et le titrage des antigènes, est assez compliquée et nécessite beaucoup de temps; pour ces raisons, les expériences de fixation du complément se limitent à 53 souches microbiennes, que nous avons tirées de notre matériel sans aucun choix.

En examinant le tableau III, nous constatons que les antigènes provenant des souches 27 et 32 (B. pyocianiques) et 34 (fecalis-alcalinigenes), ne fixent pas l'alexine en présence des immuns-sérums 20, 55, 82, 90, 107.

Dans le groupe des bacilles coli communior, nous trouvons des souches (n^{os} 1, 114) dont l'antigène fixe le complément en présence de n'importe lequel des 5 immuns-sérums employés dans la réaction; des souches (n^{os} 7, 45, 46, 47, 51) qui ne donnent aucun résultat positif; enfin, des souches (n^{os} 3, 6, 8, 13, 23, 55, 115) dont l'antigène donne des fixations positives, d'intensité variable avec un, deux, trois ou quatre immuns-sérums.

Comme nous venons de le remarquer à l'occasion des réactions d'agglutination, les fixations du complément indiquent une parenté sérologique des coli et paracolibacilles, sans que les résultats de ces réactions correspondent aux classifications biochimiques. En effet, l'antigène provenant de la souche n° 3, coli communior, au point de vue des fermentations des sucres, donne une fixation très faible (±) qui disparaît après une demi-heure, en présence d'immun-sérum 82 (coli communior); il fixe pourtant franchement l'alexine, en présence d'immun-sérum 107 (lactis-aerogènes, race B^2, anindologène, de Besson).

L'antigène provenant de la souche n° 13 (coli communior) donne une fixation intense en présence des immus-sérums 20 (lactis-aerogenes) et 90 (préparé avec un paracolibacille); il reste tout à fait inactif en présence du sérum 82, préparé avec un B. coli communior. Les antigènes 114 et 115 correspondent aux deux souches de colibacilles, isolées de l'urine et du sang d'une même malade qui est morte à cause d'une infection urinaire. Ils sont identiques au point de vue des réactions biochimiques ; pourtant, l'antigène 114 (colibacille de l'urine) donne des fixations plus intenses avec les 6 immuns-sérums expérimentés, tandis que l'antigène 115 (colibacille du sang) donne des fixations moins intenses et seulement en présence de 4 immuns-sérums.

Les mêmes observations peuvent être faites au sujet des autres groupes de colibacilles. Nous remarquons, en outre, un parallélisme assez constant entre les résultats des agglutinations

et des réactions de fixation du complément. Ainsi, les mêmes échantillons de colibacilles, qui sont agglutinés par l'immun-sérum anti-endoprotéinique 20, fournissent des antigènes qui donnent des réactions de fixation du complément positives, en présence de l'immun-sérum mentionné.

En ce qui concerne les paracolibacilles, nous constatons que, parmi les 6 antigènes (n^{os} 4, 29, 54, 57, 90, 101) mentionnés dans le tableau II, les n^{os} 4 et 90 fournissent des résultats positifs. L'antigène 90 donne des fixations positives en présence de toute la série d'immuns-sérums, anti-paracoli, ainsi qu'anti-coli.

Il résulte que, pour identifier un colibacille par la méthode de déviation du complément, nous devons employer plusieurs immuns-sérums spécifiques, préparés comme nous venons de le dire au paragraphe des agglutinations, avec plusieurs souches microbiennes, d'origines diverses. Pour la mise en évidence de l'anticorps spécifique dans le sérum d'un malade à infection colibacillaire (colicystite, etc.), il serait recommandable d'employer un poli antigène microbien, qu'on peut garder indéfiniment à 0°, dans le vide et à l'abri de l'humidité (excitatoire).

Pour terminer, nous mentionnons quelques expériences de contrôle, que nous avons effectuées parallèlement aux réactions de fixation du complément. Ainsi, tous les antigènes microbiens ont été mis en contact avec un immun-sérum anti-méningococcique (le seul non phéniqué que nous avons eu à notre disposition); dans ces conditions, aucun antigène ne fixa pas l'alexine.

En nous conduisant d'après la technique déjà mentionnée, nous avons préparé une série d'antigènes microbiens, en partant de bacilles typhiques, paratyphiques B, Aertrycke, Shiga, Flexner, Proté X. 19 et Fecalis-alcalinigenes. Avec ces antigènes, nous avons entrepris une série d'expériences de fixation du complément, en présence d'immuns-sérums anti-typhique, anti-Shiga, anti-Flexner, anti-coli polyvalent et anti-paracoli 90.

Nous constatons, en examinant le tableau IV, que l'antigène typhique, paratyphique B et Aertrycke devient l'alexine en présence d'immun-sérum anti-typhique, et l'antigène Shiga en présence d'immun-sérum anti-Shiga et anti-Flexner. L'antigène Proté X. 19, ainsi que l'antigène Fecalis-alcalinigenes, fixent eux aussi l'alexine, en présence du sérum anti-Flexner, mais avec une intensité très réduite; l'hémolyse complète apparaît d'ailleurs après une demi-heure. Enfin, et cela nous intéressait en particulier, aucun des antigènes mentionnés ne donne pas une réaction positive en présence d'immuns-sérums anti-coli et anti-paracoli.

TABLEAU IV

Antigène	Sérum immun-anti-typhique		Sérum immun-anti-Shiga		Sérum immun-anti-Flexner		Sérum immun-anti-coli polyvalent		Sérum immun-anti-souche n° 90	
	Tube réaction	Témoin antigène	Tube réaction	Témoin antigène	Tube réaction	Témoin antigène	Tube réaction	Témoin antigène	Tube réaction	Témoin antigène
Typhique...	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Para-typhique B	++	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Aertrike	++	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Shiga	0	0	+	0	+	0	0	0	0	0
Flexner.....	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Proté X. 19.	0	0	0	0	±	0	0	0	0	0
Fecalis-alcalinigènes..	0	0	0	0	±	0	0	0	0	0

CONCLUSIONS

— En examinant les urines provenant de 770 femmes enceintes, accouchées, ou dans les suites de l'avortement, nous avons constaté que 260, ce qui donne 33 %, contiennent des microbes.

— La grande majorité des cas d'infection des voies urinaires est due aux colibacilles (86 %); les entérocoques, bacilles pyocianiques, bacilles fecalis-alcalinigenes, staphylocoques, streptocoques, diplocoques de Neisser, bacilles Gram positifs et tétragènes se rencontrent rarement (0,5 % - 3 %).

— Le matériel récolté à cette occasion, une fois trié, nous avons conservé un nombre de 88 souches de bacilles Gram négatifs provenant de cas d'infection des voies urinaires avec présence de pus; il y avait 2 souches de bacilles pyocianiques, 2 souches de bacilles fecalis-alcalinigenes et 84 colibacilles.

— Parmi les 84 colibacilles, 72, ce qui donne 85 %, peuvent être incorporés à l'une des classifications basées sur les réactions fermentatives sur les sucres, par exemple la classification de Mac Coukey : 22 acidi-lactis, 8 coli communis, 19 coli communior, 23 lactis-aerogenes.

Il en restait 12 souches (14 %) qui présentent le caractère

commun de ne pas attaquer la lactose, et que nous incorporons au cinquième groupe des bacilles paracoli.

— Généralement, les colibacilles produisent l'indol; nous n'avons rencontré que 7 échantillons anindologènes, dont 6 correspondent à la race B^2 de Besson. Les paracolibacilles nous ont fourni 8 souches indologènes et 4 anindologènes.

— Au point de vue de l'action hémolytique, dans les conditions de nos expériences (cultures sur bouillon additionné de globules rouges lavés), 10 colibacilles (13,8 %) se sont montrés franchement hémolytiques pour les globules rouges d'homme et de mouton; 9 autres souches (12,5 %) ne produisent qu'une très faible hémolyse sur les globules d'homme. Ajoutons 3 souches hémolytiques parmi les paracolibacilles.

— Le lapin immunisé contre une souche de bacilles coli ou paracoli fournit, en général, un sérum qui agglutine, à titre élevé (1/2000-1/4000), la souche homologue. Nous avons pourtant rencontré une souche de B. paracoli (n° 76) qui ne provoque presque pas d'agglutinines chez l'animal immunisé. Ce même sérum, qui n'agglutinait pas la souche homologue, présentait en outre une remarquable propriété anti-complémentaire, qui le rendait impropre aux réactions de fixations du complément.

— L'immun-sérum anti-coli, monovalent, agglutine très rarement, *à titre élevé*, une souche hétérologue (sérum anti-souche n° 20 — souches n^{os} 72, 96; sérum anti-souche n° 50 — souche n° 11, etc.).

Ce même sérum, aux dilutions moins élevées (1/100^e-1/500^e) que l'expérience nous a démontrées pourtant spécifiques, agglutine un grand nombre de colibacilles.

Il paraît que les qualités de l'immun-sérum sont accrues si on le prépare en employant comme antigène, chez le lapin, des endoprotéines microbiennes.

— Les paracolibacilles se rattachent aux colibacilles par leurs propriétés antigéniques; ils montrent, les uns et les autres, certaine parenté sérologique.

— Aucun parallélisme ne peut être établi entre la classification basée sur les réactions fermentatives et les résultats sérologiques. Pratiquement, pour identifier une souche de colibacille par la méthode d'agglutination, il est recommandable d'employer plusieurs immuns-sérums, préparés avec différentes souches, et de considérer les réactions positives qui paraissent aux dilutions 1/100^e-1/500^e.

— Les souches hémolytiques (coli et paracolibacilles) se

groupent aussi au point de vue sérologique; ainsi, presque 70 % sont agglutinées par l'immun-sérum préparé avec l'une d'elles.

— « L'agglutination spontanée », chez les colibacilles, rencontrée quelquefois au cours des expériences, ne constitue pas un impédiment dans la pratique des réactions.

— La réaction de fixation du complément indique très souvent, mais pas toujours, la parenté sérologique des colibacilles; il est vrai que nous avons employé un nombre plus restreint d'immuns-sérums que pour les réactions d'agglutination. Comme pour les agglutinations, les résultats des fixations du complément sont tout à fait indépendants des réactions biochimiques.

— Pour mettre en évidence l'anticorps spécifique dans le sérum d'un malade à infection colibacillaire, il serait recommandable d'utiliser un poli antigène microbien.

BIBLIOGRAPHIE

1. Anselmi (D.) : « Untersuchungen über die Variabilität des Bacterium Coli. » (*Centralbl. f. Bakt.*, Or., 1924, 92, 518.)
2. Bardisian (A.) : « Meningite da B. Coli. » (*Pediatria*, 1930, XXXVIII, 777.)
3. Beckerich (A.) et Hauduroy (P.) : « Le traitement des infections urinaires à colibacilles par le bactériophage d'Hérelle. » (*Bull. méd.*, 1923, 37.)
4. Bitter (L.) et Gundel (M.) : Untersuchungen über Bacterium Coli als Erreger von Cystopyelitiden. » (*Klin. Woch.*, 1924, III, 2141.)
5. Id. : « Untersuchungen über Bacterium Coli als Erreger von Cystopyelitiden. » (I. *Mitteilung, Zschr. f. Hyg.*, 1925, 104, 203. — II. *Id.*, 1925, 104, 752.)
6. Id. : « Ueber die Bedeutung der Typen für den Verlauf von Colipyelitiden. » (*Klin. Woch.*, 1925, IV, 1395.)
7. Bondo (E.) : « Propriétés caractéristiques de races de colibacilles proprement dits, prélevés sur des animaux à sang chaud et à sang froid. » (*C. R. Soc. Biol.*, 1921, LXXXIV, 421.)
8. Bordet (J.) et Ciuca (M.) : « Exsudats leucocytaires et autolyse microbienne transmissible. » (*C. R. Soc. Biol.*, 1920, LXXXIII, 1289.)
9. Braun (H.) et Goldschmidt (R.) : « Ueber den anaeroben Verwendungsstoffwechsel der Coli -und Paratyphus -B- Bazillen. » (*Centralbl. f. Bakt.*, Or, 1928, CIX, 353.)
10. Calalb (G.) et Ionescu (T.-V.) : « Sur un cas de pyélonéphrite gravidique à bacilles dysentériques. » (*C. R. Soc. Biol.*, 1925, 1460.)
11. Czickeli (H.) : « Biologisches über den Erreger der Colipyelocystitis. » (I. *Mitteilung, Centralbl. f. Bakt.*, Or., 1924, 91, 459. — II. *Id.*, Or, 1924, 92, 527.)
12. Douglas (M.) : « Some principles regulating the life and death of patogenic intestinal bacteria in artificiel media and in fruit juices. » (*Lancet*, 1930, CCXIX, 789.)
13. Dudgeon (L.-S.) : « Acute infection of the urinary tract due to a special group of haemolytic bacilli. » (*J. of. Hyg.*, 1924, Camb. XXII, 348.)
14. Id : « A study of the intestinal flora under normal and abnormal conditions. » (*Ibid.*, 1926, XXV, 119.)

15. Dudgeon (L.-S.), Wordley (E.) et Bawtree (F.) : « On Bacillus Coli Infections of the Urinary tract especially in relation to Haemolytic organisms. » (*J. of. Hyg.*, 1922, XXI, 168, et 1921, XX, 137.)
16. Duthoit (A.) et Gernez (Ch.) : « Essai de classification des Bacterium coli. » (*C. R. Soc. Biol.*, 1922, LXXXVII, 305.)
17. Eftimescu (Gr.) et Ionescu (I.) : « Bacteriofagul in tratamentul pyelonefritelor colibacilare. » (*Rev. St. Medicale*, 1928, 736.)
18. Fabry (P.) : « Note sur le bacille coli modifié, ne produisant plus d'indol. » (*C. R. Soc. Biol.*, 1922, LXXXVII, 113.)
19. Id. : « Les réactions d'immunité vis-à-vis d'une nouvelle race artificielle de coli. » (*Ann. Pasteur*, 1922, 36, 654.)
20. Fisch : « Les variations de morphologie du Bacterium coli dans les infections urinaires. » (*Journ. d'Urologie*, 1926.)
21. Fischer (G.) : « La croissance de « Bacillus coli » et des bacilles paratyphiques dans les milieux demi-solides. » (*C. R. Soc. Biol.*, 1930, CIV, 528.)
22. Freudzel et Szymanowski (Z.): « Recherches expérimentales sur la paraagglutination. » (*C. R. Soc. Biol.*, 1928, XCIX, 1149.)
23. Gheorghiu (I.) et Barth (C.) : « Caractères biochimiques et sérologiques de différentes souches de « Bacillus coli. » (*C. R. Soc. Biol.*, 1928, XCVIII, 1631.)
24. Goiffon (R.) : *Les colibacilloses en pratique médicale.* Paris, 1931, édit., Masson.
25. Golovanoff : « De la vaccination anti-colibacillaire ; étude de l'immunité locale. » (*C. R. Soc. Biol.*, 1928, XCVIII, 660.)
26. Gross (H.) : « Ueber Colitoxin. » (*Centralbl. f. Bakt.*, Or. I, 1929, CXI, 317.)
27. Id. : « Die Hämolysine und Nekrosegifte der Staphylokokken, Streptokokken und Colibazillen. » (*Centralbl. f. Bakt.*, Or. I, 1930, CXV, 367.)
28. Gundel (M.) : « Ueber den Rezeptorenapparat der Gruppe der Colibakterien. » (*Zeitschr. f. Immunitätsf.*, 1930, LXIX, 99.)
29. Gyorgy (P.) : « Beitrag zur Systematik der Paracoli-Bazillen. » (*Centrabl. f. Bakt.*, Or., 1920, 84, 321.)
30. Helmholz (H.) : « The production of local renal lesions in rabbits by intravenous injection of certain strains of B. coli. » (*Journ. Inf. Dis.*, 1927, XLI, 448.)
31. Helmholz (H.) et Beeler (C.) : « Focal lesions produced in Rabbitis by colon bacilli isolated from Pyelo-cystitis Cases. » (*Am. J. Dis. Child*, 1917, XIV, 5.)
32. Herrold (R.-D.) et Culver (H.) : « A study of the Gram-negative bacilli of renal infections. » (*J. Infect. Dis.*, 1919, XXIV, 114.)
33. Hoder (F.) et Singer (E.) : « Atypische der Coli-Paratyphusgruppe angehörende Bakterien. » (*Centralbl. f. Bakt.*, Or. I, 1927, CV, 7.)
34. Hoffmann (V.) et Pesch (K.) : « Untersuchungen ueber den Wert der Coliagglutination für die klinische Diagnose der Coliinfektionen. » (*Kl. Woch.*, 1925, IV, 2345).
35. Jahiel (R.) et Petetin (J.) : « Colibacilluries d'origine digestive. Traitement par antivirusthérapie locale. » (*Presse Méd.*, 1930, 1326.)
36. Janke (A.) et Holzer (H.) : « Ueber das proteolytische Vermögen der Mikroben im allgemeinen, und das « Bact. Coli » im besonderen. » (*Biochem. Zeitschr.*, 1929, CCXIII, 142.)
37. Jansen (J.) et Dooren de Jong : « Ueber eine durch Bacterium coli communior zu Rotterdam verursachte Massenvergiftung. » (*Centralbl. f. Bakt.*, Or., 1930, CXVII, 193.)
38. Klienenberger (E.) : « Künstliche Gewinn und Verluständerungen im Salizin (bzw. Arbutin) Vergärungsvermögen eines Coli-Bakteriums im besondersausgedehnten Versuchsreihen. » (*Centralbl. f. Bakt.*, Or., 1927, CI, 461-482.)

39. Kligler (I.-J.) : « Studies on the classification of the Colon group. » (*Journ. Infect. Dis.*, 1914, XV, 187.)
40. Lepoutre (C.) : *Bactérimies, Pyélites, Pyélonéphrites.* Paris, 1930, édit. Doin.
41. Lepper (E.-H.) : « The production of coliform infection in the Urinary tract of rabbitis. » (*J. Pathol. and Bacteriol.*, 1921, XXIV, 192.)
42. Levine (M.) : « Differentiation of B. coli and B. aerogenes on a Simplifield eosin-methylene blue agar. » (*Journ. of inf. Dis.*, 1918, XXIII, 43.)
43. Licht (I.) : « Die dünndarmflora beim Morbus Biermer. » (*Centralbl. f. Bakt.*, Or. I, 1930, CXV, 320.)
44. Löwenberg (W.) : « Zur Pathogenese der Colipyelitis. Klinische Beobachtungen und bakteriologisch-serologische Untersuchungen. » (*Zeitschr. f. d. Ges. exp. Med.*, 1924, 41.)
45. Lowenstein (L.), Fleming (W.) et Neill (J.) : « Studies on bacterial enzymes. Lactase and Lipase of the colon bacillus. » (*Journ. Exp. Med.*, 1929, XLIX, 475.)
46. Mac Conkey (A.) : « Lactose-fermenting bacteria in faeces. » (*Journ. of Hyg.*, 1905, V, 333.)
47. Id. : « A contribution to the bacteriology of Milk. » (*Ibid.*, 1906, VI, 385.)
48. Id. : « Further observations on the differentiation of lactose-fermenting bacilli, with special reference to those of intestinal origin. » (*Ibid.*, 1909, IX, 86.)
49. De Magalhaes (A.) : « 1290 souches de colibacilles de l'intestin de l'homme. » (*C. R. Soc. Biol.*, 1924, XCI, 234.)
50. Mauté (A.) : « Traitement des infections colibacillaires des voies urinaires par le vaccin coli soude. » (*Journ. méd. franç.*, 1922, 11.)
51. Maymone (B.) : « Contributo alla studio della biologia del Bacterium Coli Eschrich. » (*Arch. di Farmac. sperim. e Sci. aff.*, XXIII, 2-21, et *Bull. Pasteur*, 1918, XVI, 317.)
52. Meyer (K.) et Lowenberg (W.) : « Zur Frage der serologischen Einheitlichkeit der Colibacillen. » (*Klin. Woch.*, 1924, III, 836.)
53. Minkewitsch (J.), Trofimuk (N.) et Wedenjapin (S.) : « Ueber die Bedeutung der zweifachen Herkunft der Bakteriengruppe Coli-aerogenes für die sanitäre Beurteilung des Trinkwassers. » (*Zeitschr. f. Hyg.*, 1928, CIX, 348.)
54. Minkewitsch (J.) : « Die Grundtypen der Bakteriengruppe Coliaerogenes und ihre Herkunft. » (*Zeitschr. f. Hyg.*, 1930, CXI, 180.)
55. Nissle : « Die Colibacterien und ihre pathogene Bedeutung. » (*Handb. d. path. Mikroorganismen* (Kolle-Wassermann), 1929, VI, 1, 415.)
56. Petit (R.) : *Les Colibacilluries.* Paris, 1929, édit. Amédée Legrand.
57. Scheffer (M.) : « Die suikervergisting door bacteriën der Coligroep. » (*Thèse,* Université Delft, 1928 ; in *Bull. Inst. Pasteur*, 1929, XXVII, 674.)
58. Smith (Th.) : « The relation of the capsular substance of « B. coli » to antibody production. » (*Journ. exp. Med.*, 1928, XLVIII, 351.)
59. Trawinski (A.) : « Paratyphus B-ähnliche Bakterien in dem Menchenfäzes. » (*Centralbl. Bakt.*, 1924, I. Or., 92, 356.)
60. Vincent (H.) : « Sur l'élimination urinaire du Bacillus coli communis et sur son origine hématogènes. » (*C. R. Acad. Sc.*, 1925, 180, 239.)
61. Id. : « Sur la pathogénie et les conditions d'entretien de la colibacillurie. » (*Ibid.*, 407.)
62. Id. : « Nouvelles recherches sur la pathogénie de la Colibacillurie. Action d'un sérum thérapeutique anti-colibacillaire. » (*Ibid.*, 1083.)
63. Id. : « Sur la pluralité des toxines du Bacillus coli et sur les bases expérimentales de la sérothérapie anti-colibacillaire. » (*Ibid.*, 1624.)

64. Id. : « Sur la sérothérapie anti-colibacillaire. Résultats de son emploi dans les infections aiguës ou chroniques à Bacillus coli. » (*Ibid.*, 1928, 187, 407.)
65. Id. : « L'indice toxique des races du Bacillus coli. Nouvelles remarques sur les bases expérimentales de la sérothérapie anti-colibacillaire. » (*Ibid.*, 787.)
66. Id. : « Sur les effets pathogènes exercés chez l'homme et chez l'animal, par l'exotoxine neurotrope du Bacillus coli. » (*Ibid.*, 1929, 189, 381.)
67. Id. : « Sur la sérothérapie anti-colibacillaire. » (*Bull. Acad. Méd.*, 1928, C, 1232.)
68. Id. : « Nouvelles remarques sur les résultats de la sérothérapie anti-colibacillaire. » (*Ibid.*, 1929, CI, 393.)
69. Id. : « Rôle de la toxi-infection colibacillaire dans certaines antéropathies chroniques. Action de la sérothérapie anti-colibacillaire dans ces états morbides. (*Ibid.*, 1930, CIII, 431.)
70. Weinberg (M.) et Ginsburg (B.) : « Réactions du sérum humain normal vis-à-vis du Bacterium coli (agglutination et floculation). » (*C. R. Soc. Biol.*, 1924, XC, 992.)
71. Weinberg (M.) et Prévot (A.) : « Sérum anti-colibacillaire préparé avec des corps microbiens formolés. » (*C. R. Soc. Biol.*, 1928, XCVIII, 1209.)
72. Weinberg : « Nouvelles recherches sur le sérum anti-colibacillaire. » (*C. R. Soc. Biol.*, 1933, CXIII, 1029.)
73. Wohlfeil (T.) : « Beiträge zur Erforschung des oxybiotischen Gasstoffwechsels der Bakterien. » (*Centralbl. f. Bakt.*, Or., 1930, CXV, 413.)

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE LA COMPOSITION CHIMIQUE DE LA CELLULE BACTÉRIENNE. SUBSTANCES AZOTÉES ET PHOSPHORÉES « ACIDO-SOLUBLES »

(Techniques et premiers résultats)

par

André BOIVIN et Lydia MESROBEANU

(Travail des Laboratoires de Chimie biologique de l'Institut Cantacuzène et de la Faculté de Médecine de Bucarest)

INTRODUCTION

D'innombrables travaux ont été consacrés à la « Chimie microbienne ». Mais dans l'immense majorité des cas, les auteurs ont envisagé la question sous l'angle du problème des fermentations : étant donné un milieu extérieur de composition connue, quelles modifications chimiques l'activité bactérienne provoque-t-elle dans ce milieu ? Des résultats du plus haut intérêt ont été obtenus dans cette voie, au premier rang desquels il suffira de rappeler, par exemple, ceux de Harden et ceux de Neuberg touchant la fermentation alcoolique.

Un autre côté de la question est l'étude chimique de la cellule microbienne elle-même et des variations qu'elle peut subir, non seulement selon l'âge de la culture, mais encore sous l'influence des changements intervenant dans le milieu extérieur. On a particulièrement étudié, de ce point de vue, la teneur des bac-

Arch. roum. de pathol. expér., t. vii, n° 1, mars 1934.

téries en substances minérales, et un travail récent de Dambovi-ceanu et Barber [1, 17] renferme une riche documentation sur ce sujet. Mais il est quelque peu déroutant, pour qui est habitué à la biochimie des animaux supérieurs, de considérer la plasticité chimique extraordinaire des microbes et de noter les variations considérables que peuvent subir certains constituants minéraux des bactéries, lorsque le milieu de culture varie dans sa composition. Les travaux de Cramer [15, 16], de Schweinitz et Dorset [38], de Frouin et Guillaumie [21], de Dawson [19], etc., sont particulièrement probants à cet égard. Veut-on un exemple, très typique, emprunté au dernier auteur cité : selon la constitution du milieu de culture utilisé, le colibacille peut montrer les variations extrêmes suivantes dans sa composition :

H_2O	de	60,2	à 79,6	%
Cendres totales		2,11	à 7,83	
P_2O_5		0,92	à 4,22	
CaO		0,04	à 2,71	

Guilleman et Larson [22] ont tenté d'expliquer de pareilles variations en admettant, ce qui est assez douteux, du point de vue physiologique, qu'une partie de chaque sel rencontré dans la cellule microbienne a la valeur d'un constituant protoplasmique constant, le reste représentant simplement une sorte de surcharge saline, provenant du milieu extérieur et variable avec ce milieu.

Dans l'immense majorité des cas, les auteurs se sont bornés à doser, dans une masse microbienne donnée, un ou plusieurs corps simples ou corps composés, sans se préoccuper de l'état sous lequel se trouvent ces corps et du partage qu'ils sont susceptibles de subir entre plusieurs formes dont la signification physiologique peut être fort différente pour la cellule microbienne. Ainsi, par exemple, si l'on se contente de pratiquer, après minéralisation, un dosage de phosphore, on totalise sous un même chiffre le phosphore appartenant aux divers phospholipides, aux phosphoprotéines, aux acides nucléiques, aux nucléotides et à leurs dérivés pyrophosphoriques, aux esters phosphorés des sucres, du glycérol et de l'acide glycérique, aux dérivés phosphoguanidiques, aux orthophosphates minéraux, etc..., corps qui ont évidemment des rôles très dissemblables dans la cellule, où ils figurent côte à côte en proportions très différentes. De même, si l'on se contente, après hydrolyse acide, de doser l'azote purique, on n'obtient qu'une résultante des purines engagées en acides

nucléiques, en nucléotides libres ou copulés à l'acide pyrophosphorique, en nucléosides et en corps puriques libres divers, la proportion et la signification physiologique de chacun de ces constituants demandant à être précisées pour elles-mêmes et ne pouvant certainement pas être tirées de la seule considération d'un chiffre à caractère totalisateur. De nombreux travaux, dont l'analyse détaillée ne saurait trouver place ici, ont trait à la teneur des bactéries en azote total, en carbone total, etc., avec fréquemment la préoccupation de rechercher comment les variations dans la composition du milieu de culture retentissent sur la récolte en substances bactériennes totales, en azote bactérien total, etc. Il suffira, à titre d'exemple, de signaler les intéressants travaux de Koser et Rettger [27] et ceux de Braun et Cahn-Bronner [13], sur l'emploi d'un seul acide aminé ou des sels ammoniacaux comme unique source d'azote offerte à la croissance microbienne. Pour si intéressants qu'ils soient, les renseignements d'ordre global obtenus sont évidemment d'une interprétation quelque peu malaisée. Il nous est apparu comme hautement désirable de tendre à réaliser, pour la cellule microbienne, ce qui a été fait pour certaines cellules animales, la cellule musculaire tout spécialement, et d'établir le bilan des divers composés qui se rencontrent dans la cellule microbienne, en précisant pour chacun d'eux son état physico-chimique, et en étudiant de même les enzymes qui en contrôlent la formation et la destruction dans la cellule. C'est là un problème extrêmement vaste et complexe, et toute notre précaution se borne, dans le présent travail, à en amorcer l'étude sur quelques points particuliers.

Mais un problème de technique se pose tout d'abord. En première approximation, la matière vivante apparaît comme une dispersion, au sein du solvant eau, de deux catégories de molécules : 1° de grosses molécules d'albumine, de graisse, etc., non diffusibles à travers la membrane cellulaire normale; 2° des molécules plus petites de sels, de sucres, d'acides aminés, etc., plus ou moins capables de diffuser sous le contrôle de la perméabiiité sélective de la membrane et en état d'équilibre d'anabolisme-catabolisme avec les molécules de première catégorie. Dans le cas des tissus des êtres supérieurs, la « déprotéinisation » par l'acide trichloracétique, réalisée à partir des tissus broyés, permet, en pratique, de séparer ces deux catégories de constituants protoplasmiques, les substances diffusibles, à petite molécules, étant « acido-solubles ».

Des essais multiples nous ont montré que la destruction, par broyage, de la cellule microbienne, constitue une opération des plus laborieuses, que le broyage soit obtenu mécaniquement avec l'aide des substances inertes (quartz, etc.), ou que l'éclatement des cellules soit réalisé par une longue série de brusques congélations à l'air liquide, suivies de brusques dégels. L'opération demande un temps long, pendant lequel les diastases ont toute liberté pour modifier, du tout au tout, la constitution chimique des bactéries. L'extrême petitesse de la cellule microbienne d'une part, et d'autre part l'augmentation généralement très marquée de la perméabilité de la membrane chez les cellules mortes, nous ont incités à penser qu'on pourrait peut-être obtenir une extraction aisée et complète des substances acido-solubles, en traitant directement les bactéries non broyées par l'acide trichloracétique. L'expérience a confirmé notre attente et nous allons tout d'abord décrire et justifier la technique à laquelle nous nous sommes finalement arrêtés, après quelques tâtonnements préliminaires qu'il serait oiseux d'indiquer. Nous exposerons ensuite quels sont les corps azotés et phosphorés acido-solubles que nous avons pu caractériser jusqu'à présent, en notant la place qu'ils tiennent dans la constitution de la cellule microbienne et en recherchant les diastases qui agissent sur eux. Nous verrons la cellule microbienne apparaître comme quelque chose de chimiquement fort complexe et ce sera le moment de se rappeler les paroles de Claude Bernard [2], écrites pour les animaux monocellulaires, mais qui s'appliqueraient fort bien aux bactéries : « Il ne faudrait pas croire, en effet, que l'animal inférieur est plus simple ou que ses fonctions sont moins compliquées ou moins nombreuses; et qu'on pourrait les prendre, pour ainsi dire à leur naissance, pour suivre ensuite leur développement dans les animaux supérieurs qui auraient ainsi des propriétés nouvelles se surajoutant aux premières. L'animal inférieur possède toutes les propriétés essentielles qu'on retrouve aux degrés les plus élevés de l'échelle des êtres; mais il les possède à l'état confus et pour ainsi dire dans toutes les parties du corps. »

TECHNIQUE POUR L'EXTRACTION DES SUBSTANCES « ACIDO-SOLUBLES » DE LA CELLULE MICROBIENNE

Description générale de la technique [6]. — Les bactéries sont cultivées pendant vingt-quatre heures à 37°, sur gélose ordinaire, puis on les recueille en les émulsionnant dans de l'eau distillée. On les lave trois fois à l'eau, par centrifugation à 8000 tours, l'opération étant conduite aussi rapidement que possible. Le dernier liquide de lavage étant éliminé, on pèse la purée microbienne, qu'on émulsionne aussitôt dans de l'eau, en sorte que chaque centimètre cube de suspension corresponde à 0,2 gr. de microbes. En évaporant, à 100°, 1 centimètre cube d'émulsion ainsi obtenue, et en pesant le résidu, on peut calculer la quantité de substances sèches renfermées dans la purée microbienne. On trouve que celle-ci contient de 20 à 25 % de son poids de matières sèches, selon les diverses espèces microbiennes. L'émulsion bactérienne au cinquième est additionnée de son volume d'acide trichloracétique N/2; on agite durant quelques instants; après quoi, on abandonne pendant trois heures à la glacière. On sépare enfin les corps microbiens du liquide trichloracétique, par une centrifugation prolongée à 8000 tours. Les bactéries, ainsi traitées, gardent leur morphologie apparente et leur colorabilité élective à la méthode de Gram. Le liquide d'extraction trichloracétique est coloré en jaune pâle. Selon les espèces microbiennes, il est ou bien absolument limpide ou bien, et le plus souvent, plus ou moins opalescent, mais l'opalescence constatée résiste à toute filtration et à toute centrifugation [9, 12]. A la titration, on peut constater qu'une faible partie seulement de l'acide trichloracétique mis en œuvre a été neutralisée par son contact avec les microbes.

Justification de la technique. — L'extraction des substances acido-solubles, par l'acide trichloracétique, est très rapide. En quelques minutes, on obtient déjà au moins 50 % de l'azote et du phosphore acido-solubles renfermés dans la cellule bactérienne, et après vingt-quatre heures de contact, on n'extrait pratiquement pas plus d'azote et de phosphore qu'après trois heures seulement. Les expériences suivantes justifient nos affirmations.

L'émulsion trichloracétique d'une même purée microbienne

a été divisée en plusieurs lots et on a fait varier d'un lot à l'autre la durée du contact entre l'acide et les microbes. On a pratiqué ensuite, selon les techniques qui seront indiquées plus loin, le dosage du P acido-soluble total, du P des orthophosphates et de l'azote acido-soluble total. Tous les résultats, qui sont consignés dans le tableau I, sont ramenés à 100 parties de matière microbienne sèche.

TABLEAU I

Bactéries	Durée du contact	P acido-soluble total	P ortho	N acido-soluble total
B. coli	3 m.	0,267	—	0,382
	3 h.	0,307	—	0,715
	24 h.	0,318	—	0,730
B. coli	3 h.	0,334	0,112	0,692
	24 h.	0,356	0,107	0,692
Staphylococcus aureus.	3 m.	0,600	—	0,825
	3 h.	0,689	—	1,960
	24 h.	0,704	—	1,984
Staphylococcus aureus.	3 h.	0,672	0,450	1,992
	24 h.	0,714	0,447	1,940
B. subtilis	3 h.	0,487	0,281	1,651
	24 h.	0,507	0,289	1,631
Proteus vulgaris	3 h.	0,522	0,324	1,230
	24 h.	0,498	0,327	1,230
Micrococcus prodigiosus	3 h.	0,629	0,318	1,233
	24 h.	0,654	0,298	1,250

Sur la levure, dont les cellules beaucoup plus grosses que celles des bactéries sont susceptibles d'être broyées assez aisément, on a vérifié que le broyage cellulaire n'augmente pas le rendement en substances acido-solubles. Une levure industrielle a été cultivée sur gélose au malt, et la purée cellulaire obtenue a été divisée en deux lots, dont l'un a été traité exactement par la technique utilisée dans le cas des microbes. L'autre lot a été placé dans un grand mortier où on l'a additionné d'un petit volume d'acide trichloracétique 2 N et de kieselguhr. Un broyage énergique a été prolongé pendant une demi-heure, après quoi on s'est assuré au microscope de la destruction totale des cellules. On a ajouté alors les quantités nécessaires d'acide trichloracétique et d'eau pour se placer dans les conditions habituelles, et on a laissé le contact se poursuivre pendant trois heures à la

glacière. Après centrifugation, on a obtenu deux liquides d'extraction trichloracétique, l'un correspondant aux cellules non broyées et l'autre aux cellules broyées, qui donnent au dosage, et à moins de 10 % près, les mêmes valeurs pour le P acido-soluble et le N acido-soluble. Enfin, on a vu que, malgré sa grande taille relative, la cellule de levure non broyée se comporte comme la cellule bactérienne et qu'elle cède très rapidement, à l'acide trichloracétique, ses substances acido-solubles, l'extraction étant pratiquement complète, ici encore, en moins de trois heures de contact.

L'extraction trichloracétique doit être opérée à la glacière, sous peine de voir s'installer une augmentation progressive de l'azote et du phosphore acido-solubles, qui est d'autant plus rapide que la température est plus haute. La valeur élevée du coefficient de Van't Hoff (1) relatif au phénomène (environ 3) conduit à penser qu'on se trouve en présence d'une réaction chimique libérant des composés azotés et phosphorés acido-solubles aux dépens des corps initialement non acido-solubles, et non pas en présence d'un banal phénomène d'accroissement de la vitesse de diffusion par élévation de la température. Voici, à titre d'exemple, quelques chiffres obtenus à 37° et rapportés comme toujours à 100 parties de matière microbienne sèche :

B. coli.		
Après 3 heures de contact à la glacière....	N ac.-sol....	0,617 (soit 4,3 % de l'azote microbien total).
	P ac.-sol....	0,290 (soit 11,8 % de P microbien total).
	P ortho.....	0,110
Après 10 jours de contact à 37°.....	N ac.-sol....	3,241 (soit 22,8 % de l'azote microbien total).
	P ac.-sol....	1,612 (soit 65,7 % de P microbien total).
	P ortho.....	0,321
Staphyloçoccus aureus.		
Après 3 heures de contact à la glacière....	N ac.-sol....	2,114 (soit 17,4 % de N microbien total).
	P ac.-sol....	0,498 (soit 23,3 % de P microbien total).
	P ortho.....	0,373
Après 11 jours de contact à 37°.....	N ac.-sol....	3,963 (soit 32,3 % de l'azote microbien total).
	P ac.-sol....	1,249 (soit 58,3 % du P microbien total).
	P ortho.....	0,427

(1) Coefficient par lequel est multipliée la vitesse d'une réaction chimique quand la température s'élève de 10°.

On assiste donc, à 37° et sous l'action de l'acide trichloracétique, à une libération importante de composés azotés acido-solubles et de composés phosphorés acido-solubles, ces derniers étant essentiellement de nature organique. Ce phénomène n'est pas spécial à la cellule microbienne, et nous l'avons vu se reproduire en abandonnant pendant une semaine, au contact de l'acide trichloracétique et à 37°, des purées d'organes de lapin (rein, encéphale, foie, muscle). Kay [25], qui a signalé déjà des faits analogues concernant les tissus animaux, attribue la libération de composés phosphorés organiques acido-solubles à une décomposition partielle des phospholipides cellulaires.

LES SUBSTANCES AZOTÉES ET LES SUBSTANCES PHOSPHORÉES « ACIDO-SOLUBLES » DE LA CELLULE MICROBIENNE

Résultats obtenus [6]. — Les dosages d'azote ont été pratiqués sur l'émulsion microbienne non additionnée d'acide (azote microbien total) et sur le liquide d'extraction trichloracétique (N acido-soluble). On a mis en œuvre le « micro-*Kjeldahl* », en utilisant comme catalyseur, dans le premier cas, un mélange de sulfate de cuivre, de sulfate de mercure et de sulfate de potasse, et dans le second cas, l'oxalate de potassium, l'opération étant conduite exactement selon les indications publiées antérieurement par l'un de nous [4]. Les dosages de phosphore ont été pratiqués également sur l'émulsion microbienne non additionnée d'acide (P microbien total) et sur le liquide d'extraction trichloracétique (P acido-soluble et P ortho). On a utilisé la méthode bien connue de Briggs [14], la destruction des substances organiques étant effectuée par une attaque sulfo-nitrique.

Le tableau II résume nos résultats concernant l'azote et le phosphore acido-solubles de diverses bactéries. Les microbes ont été cultivés sur gélose ordinaire, pendant vingt-quatre heures à 37°, puis lavés par centrifugation à l'eau distillée. Tous les nombres donnés représentent des moyennes et se rapportent à 100 parties de matière microbienne sèche.

Une même souche microbienne donne, d'une culture à l'autre, des résultats assez peu variables en ce qui concerne l'azote total et l'azote acido-soluble, mais beaucoup plus largement variables en ce qui concerne le phosphore total, le phosphore acido-soluble et le phosphore des orthophosphates. Nous reviendrons plus loin sur la signification de ces faits.

TABLEAU II

Bactéries	Nombre d'expériences	P microbien total	P acido-soluble	P ortho	Nombre d'expériences	N microbien total	N acido-soluble
Staphylococcus aureus	11	2,49	0,613	0,446	10	12,10	2.060
Bacillus subtilis	2	2.91	0.580	0,275	2	11.22	1,655
Proteus vulgaris	2	2,23	0,595	0,273	2	13,92	1.265
Micrococcus prodigiosus	2	1,97	0,559	0,270	1	12,60	1,233
Babillus pyocyaneus	3	2,83	0.452	0.083	2	12,66	1,047
Bacillus coli	15	2,54	0,280	0,108	13	13,70	0,646

Voici, à titre d'exemple, les variations extrêmes rencontrées dans le cas du staphylocoque doré :

N total	de 11,75	(— 2,9 %)	à	12,60	(+ 4,1 %).
N ac.-sol	1,910	(— 7,3)		2,141	(+ 3,9).
P total	1,89	(— 24,1)		2,95	(+ 18,5).
P ac.-sol	0,464	(— 24,3)		0,721	(+ 17,6).
P ortho	0,373	(— 16,4)		0,533	(+ 24).

et dans le cas du colibacille :

N total	de 13,25	(— 3,3 %)	à	14,20	(+ 3,7 %).
N ac.-sol	0,583	(— 9,8)		0,727	(+ 12,4).
P total	1,96	(— 22,8)		3,23	(+ 27,2).
P ac.-sol	0,201	(— 28,2)		0,362	(+ 29,3).
P ortho	0,065	(— 39,8)		0,146	(+ 35,2).

les pourcentages étant relatifs aux variations par rapport à la moyenne.

TABLEAU III

Bactéries	P acido-soluble en °/₀ du P total	P ortho en °/₀ du P ac.-sol.	N acido-soluble en °/₀ de N total
Staphylococcus aureus	24,6	72,7	17
Bacillus subtilis	19,9	47,7	14,7
Proteus vulgaris	26,7	45,9	9,1
Micrococcus prodigiosus	28,4	48,9	9.8
Bacillus pyocyaneus	16,0	18,4	8,3
Bacillus coli	10,6	36,5	4,7

Il est intéressant de calculer quelle est la fraction du phosphore microbien total qui est représentée par le phosphore acido-soluble, et dans celui-ci, quelle est la participation des orthophosphates. De même, il convient de rechercher ce que représente l'azote acido-soluble par rapport à l'azote microbien total. Le tableau III précise ces points, en donnant des valeurs moyennes.

Remarques concernant la signification des résultats obtenus. — Dans l'état de développement actuel de la technique chimique, il est absolument indispensable de mettre en jeu à la fois un nombre colossalement grand de cellules bactériennes, pour parvenir à doser l'un quelconque des constituants microbiens. Il en résulte ce grave inconvénient que les résultats obtenus traduisent seulement une condition moyenne d'un ensemble des cellules bactériennes qui sont dans des états physiologiques très différents d'un individu à un autre, depuis la cellule jeune qui résulte d'une division toute récente, jusqu'à la cellule morte en voie d'autolyse. En se bornant à n'utiliser que des cultures âgées au plus de vingt-quatre heures, on réduit au minimum, sans pouvoir l'annuler complètement, la part prise par les cellules mortes dans l'ensemble des bactéries présentes dans la culture.

Pour étudier la constitution de la cellule bactérienne, il est indispensable de débarrasser la purée microbienne de toutes les substances si diverses qui peuvent la souiller, substances nutritives du milieu de culture, produits de déchet résultant de la vie bactérienne ou produits d'autolyse des cellules mortes. Un lavage des cellules bactériennes s'impose donc. Mais, alors, une grave question se pose immédiatement. Laver une cellule bactérienne, c'est la mettre en contact, pendant un temps plus ou moins long, avec de l'eau pure ou avec une solution saline, liquides nécessairement fort éloignés quant à leur composition chimique des milieux de culture favorables à la bactérie en question. Ne risque-t-on pas, par là même, de provoquer des perturbations plus ou moins étendues dans la composition chimique de la bactérie ? *A priori,* la chose est très vraisemblable. La tendance la plus générale est d'admettre en effet avec Warburg et avec Hill [24] qu'une cellule vivante n'est aucunement en équilibre thermodynamique avec le milieu environnant, et que cette cellule, pour maintenir sa structure et tout spécialement la structure de ses interfaces, doit continuellement effectuer toute une série de travaux osmotiques, électriques, etc., qui lui coûtent de l'énergie. Il s'établit ainsi, au sein de la cellule et avec le concours

constant de l'énergie libérée par les oxydations, ce que les Anglais appellent un « Steady state ». Vient-on à modifier le milieu ambiant, le « Steady state » antérieur est détruit, des échanges chimiques actifs entre la cellule et l'extérieur peuvent se produire et le métabolisme cellulaire varie en intensité jusqu'à ce que, au bout d'un temps plus ou moins long, un nouveau « Steady state » soit atteint. L'expérience, d'autre part, nous a montré très nettement que, selon qu'on lave les cellules microbiennes à l'eau pure, ou bien avec des solutions salines diverses, on peut aboutir à des résultats très différents en ce qui concerne tout spécialement la quantité de phosphore acido-soluble renfermée dans une même bactérie.

TABLEAU IV

Bactéries	Liquide de lavage	P microbien total	P acido-soluble	P ortho	N microbien total	N acido-soluble
Staphylococcus aureus	H_2O	2,312	0,529	0,359	11,85	1,940
	ClNa	2,284	0,512	0,361	11 65	1,890
		−0,028	−0,017	+0,002	− 0.20	−0,050
Staphylococcus aureus	H_2O	2,461	0,643	0,439	12,07	2,140
	ClNa	2,490	0,658	0,428	12	2,230
		+0,029	+0,015	−0,011	− 0,07	+0,090
Bacillus coli ...	H_2O	2,346	0,256	0,078	13,76	0,659
	ClNa	2,365	0,364	0,191	13,58	0,649
		+0,019	+0,108	+0,113	− 0,18	−0,010
Bacillus coli ...	H_2O	2,718	0,333	0,092	13,70	0,628
	ClNa	2,683	0,413	0,204	13,92	0,618
		−0,035	+0,080	+0,112	+ 0,22	−0,010
Bacillus subtilis.	H_2O	—	0,457	0,196	—	1,652
	ClNa	—	0,572	0,285	—	1,667
			+0,115	+0,089		+0 015
Bacillus pyocyaneus ..	H_2O	—	0,480	0,132	—	1,030
	ClNa	—	0,579	0,239	—	1,050
			+0,099	+0,107		+0 020
Proteus vulgaris	H_2O	—	0,508	0,257	—	1,311
	ClNa	—	0,637	0,414	—	1,289
			+0,129	+0,157		−0,022

Voici quelques faits très probants à cet égard [8], parmi tous ceux que nous avons constatés. Une même récolte de microbes est émulsionnée dans l'eau distillée et aussitôt on divise l'émul-

sion en deux moitiés égales, dont l'une est salée par l'adjonction de 9 grammes par litre de chlorure de sodium, et les deux lots microbiens sont lavés parallèlement par centrifugation, l'un avec de l'eau distillée, l'autre avec du sérum physiologique à 9 grammes de chlorure de sodium par litre. Finalement, on extrait dans les deux cas par l'acide trichloracétique. Nos résultats sont consignés dans le tableau IV.

Dans les limites de précision des dosages (à quelques unités % près), le phosphore microbien total, l'azote microbien total et l'azote acido-soluble ne changent pas selon que la bactérie a été lavée à l'eau pure ou à l'eau salée. En ce qui concerne le phosphore acido-soluble et le phosphore des orthophosphates, les résultats sont très variables, selon les diverses espèces. Le staphylocoque doré conduit pratiquement au même chiffre, que le lavage soit fait à l'eau ou qu'il soit fait avec sérum physiologique. Au contraire, dans le cas du *B. coli*, de *B. subtilis*, de *B. pyocyaneus* et du *Proteus vulgaris*, on constate que la quantité des orthophosphates cellulaires est bien plus grande après le lavage au chlorure de sodium qu'après lavage à l'eau, les variations étant souvent du simple au double. En même temps, on voit le phosphore acido-soluble total s'élever approximativement de la quantité dont s'élève le phosphore des orthophosphates. Chez maintes espèces bactériennes, il apparaît donc que la présence du chlorure de sodium dans le milieu environnant déplace les équilibres des substances phosphorées protoplasmiques, en libérant de l'acide orthophosphorique aux dépens des substances phosphorées non acido-solubles. L'absence d'action du même chlorure de sodium sur l'azote acido-soluble semble bien exclure l'intervention d'un simple phénomène d'autolyse cellulaire.

De nombreux auteurs ont étudié l'action des divers électrolytes sur la croissance et sur la vie des bactéries. Ils ont noté la toxicité que peuvent présenter les solutions renfermant un seul électrolyte, et la disparition de cette toxicité qui peut résulter de la présence simultanée de plusieurs électrolytes antagonistes. Les résultats de Winslow et Falk [44] sur le colibacille sont particulièrement intéressants et les constatations de ces auteurs doivent être rapprochées étroitement des faits classiques découverts par Ringer sur le cœur, et par Lœb sur le poisson *Fundulus*. Le déplacement des équilibres des substances cellulaires phosphorées, sous l'action des électrolytes du milieu ambiant, nous paraît devoir entrer, au moins pour une part, dans l'explication du comportement des bactéries vis-à-vis des solutions

salines. Nous nous proposons de reprendre la question, en étudiant, parallèlement aux variations des composés phosphorés, la variation de la respiration bactérienne, l'intensité de celle-ci, témoignant de la grandeur de l'effort que l'organisme doit mettre en œuvre pour maintenir son « Steady state ».

L'étude des réactions de la composition du milieu, sur la constitution chimique de la cellule bactérienne, exige la référence continuelle à un microbe témoin placé dans les conditions standardisées. Il nous est apparu comme très logique de faire jouer ce rôle à une bactérie en suspension dans l'eau pure, sous réserve toutefois que la composition chimique de la cellule microbienne en suspension dans l'eau reste particulièrement constante, au moins pendant un certain temps, en ce qui concerne la teneur en constituants particuliers dont on veut étudier le comportement. Une bactérie en suspension dans l'eau n'est pas en équilibre chimique avec le milieu environnant. Ses oxydations se poursuivent avec les échanges usuels d'oxygène et d'acide carbonique, et de plus, nous avons constaté que les cellules bactériennes laissent diffuser dans le milieu ambiant des orthophosphates et aussi de l'ammoniaque. Cependant, l'expérience montre que cette diffusion est lente, et que l'azote comme le phosphore acido-solubles de la cellule bactérienne, en suspension dans l'eau, restent pratiquement constants pendant un certain temps, disons pendant une heure, par exemple.

Dans un premier type d'expériences, la moitié d'une récolte microbienne a été lavée à l'eau par trois centrifugations, et l'autre moitié a été lavée à l'eau également, mais par cinq centrifugations. Les extraits trichloracétiques préparés dans les deux cas ont conduit aux chiffres suivants :

Colibacille lavé à l'eau	N ac.-sol.	P ac.-sol.	P ortho
3 fois.....	0,629	0,292	0,095
5 —	0,606	0,304	0,089
Staphylocoque lavé à l'eau			
3 fois.....	2,04	0,581	0,479
5 —	2,01	0,569	0,484

On voit que les résultats obtenus après 3 et après 5 lavages sont très voisins.

Dans un autre type d'expériences, nous avons lavé 5 fois des colibacilles à l'eau distillée, en gardant les eaux de lavage et en dosant en elles les divers constituants, après élimination à l'acide trichloracétique des traces d'albumine qu'elles renferment.

A la fin de l'expérience, nous avons obtenu au total 12.500 milligrammes de purée microbienne renfermant :

2.859 mgr. de matières sèches (22,9 % de la purée).
386 — d'azote total.
12,8 — d'azote acido-soluble.
72,2 — de phosphore total.
8,79 — de phosphore acido-soluble.
2,93 — de phosphore des orthophosphates.

Les eaux des lavages successifs ont donné au total :

	Volume cm³	N mgr.	P mgr.	P ortho mgr.
Premier lavage	88	247	24	22,4
Deuxième —	89	19	2,07	1,98
Troisième —	98	1,07	0.29	0,25
Quatrième —	95	0,34	0,33	0.33
Cinquième —	91	0,46	0,26	0,24

Les premiers liquides de lavage sont évidemment souillés par des substances provenant de la culture. Il n'en est plus de même des derniers, qui ne renferment que des quantités d'azote et de phosphore tout à fait petites devant les quantités des mêmes substances contenues dans l'ensemble des bactéries soumises au lavage. Encore peut-on penser que l'acide phosphorique et les composés azotés (ammoniaque, etc.), qui diffusent dans le milieu ambiant, viennent avant tout des bactéries en voie d'autolyse et non des bactéries vivantes. Nous vroyons pouvoir dire que, au moins en première approximation, on peut considérer des bactéries lavées soigneusement à l'eau distillée, par centrifugation à grande vitesse, comme ayant une composition chimique indépendante des conditions mêmes du lavage : durée de contact, etc. Cette composition varie cependant d'une récolte à l'autre d'un même germe, surtout en ce qui concerne les composés phosphorés. C'est là une question sur laquelle nous reviendrons plus loin.

LES COMPOSÉS PHOSPHORÉS DE LA CELLULE BACTÉRIENNE, LES PHÉNOMÈNES D'AUTOLYSE ET LES PHOSPHATASES MICROBIENNES

Des faits qui ont été exposés ci-dessus, il résulte que les variations dans la composition du milieu environnant déplacent diversement l'équilibre des composés phosphorés cellulaires de certaines bactéries. Il peut être intéressant, de ce point de vue, d'étudier les enzymes qui, dans la cellule bactérienne, doivent conditionner ces changements dans l'équilibre des divers composés du phosphore.

TABLEAU V

Durée de l'autolyse à 30°	*p*H	P ortho	Augmentation de P ortho
0	—	0,087	—
40 heures	7,5	0,176	0,089
40 —	8	0,210	0,114
40 —	8,5	0,249	0,162
40 —	9	0,387	0,300
40 —	10	0,439	0,352
40 —	11	0,368	0,281
40 —	12	0,222	0,135
6 jours	10	0,691	0,604
12 —	10	0,853	0,766

Les phénomènes d'autolyse de la cellule bactérienne nous sont apparus comme tout à fait aptes à démontrer l'existence d'enzymes attaquant les composés phosphorés, de « phosphatases » autrement dit [7]. Notre technique a été la suivante. Des bactéries, lavées à l'eau distillée par centrifugation, sont mises en suspension dans une solution tampon (glycocolle ou acétate, ou borate) de *p*H connu. On ajoute quelques gouttes de toluène ou de chloroforme, on agite vivement, puis on abandonne au thermostat à 30 ou à 37°. Lorsqu'on désire arrêter l'autolyse, on ajoute de l'acide trichloracétique de façon à atteindre la concentration N/4, puis on procède à l'extraction et au dosage des composés phosphorés acido-solubles.

Nous avons étudié l'autolyse du colibacille et du staphylocoque doré. Dans les deux cas, nous avons trouvé, au bout de

vingt-quatre à quarante-huit heures, à 30 ou à 37°, une augmentation de l'acide orthophosphorique qui, très nette entre *p*H 4 et *p*H 12, présente son optimum vers *p*H 10. Voici quelques faits particulièrement probants à cet égard.

Dans une première expérience (tableau V et fig. 1), l'autolyse

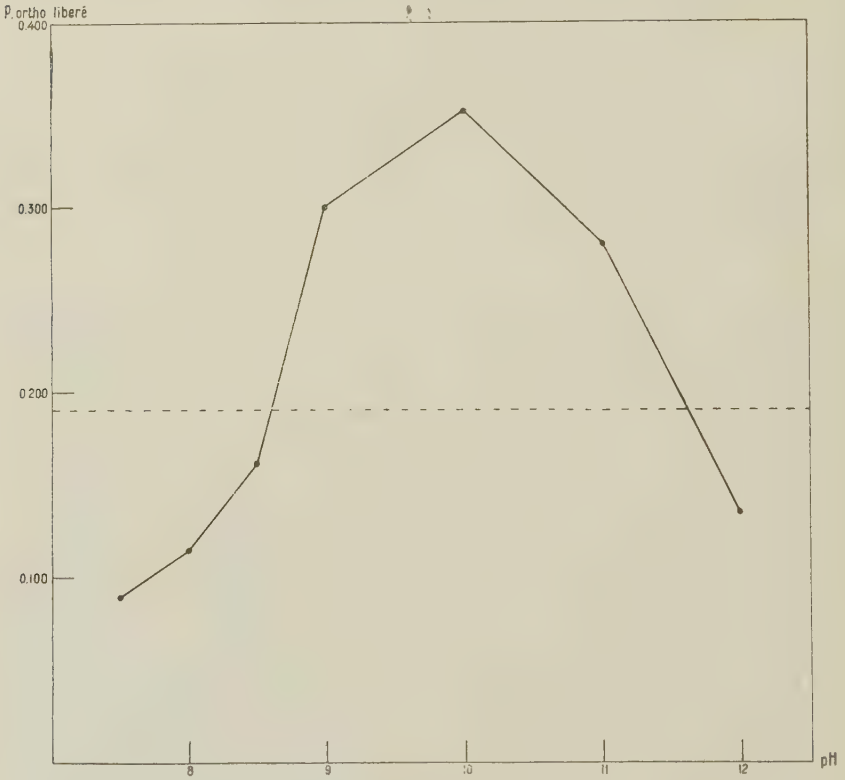


Fig. 1

Liberation de l'acide orthophosphorique au cours de l'autolyse du „Colibacille" à divers pH

du colibacille s'est effectuée à 30°, en présence de chloroforme et à divers *p*H variant de 7,5 à 12. Les microbes renfermaient initialement une quantité de phosphore total s'élevant à 2,58 % des matières sèches, le phosphore acido-soluble total représentant 0,278 et le phosphore de l'acide orthophosphorique, 0,087.

Dans la figure 1, qui est relative à l'autolyse de quarante heures, on a tracé une horizontale pointillée à l'ordonnée 0,191,

qui représente la quantité de phosphore acido-soluble autre que celui des orthophosphates, initialement présent dans la cellule microbienne. On conclut immédiatement que l'autolyse fait dériver, au moins une fraction importante de l'acide orthophosphorique libéré, de composés phosphorés non acido-solubles, de

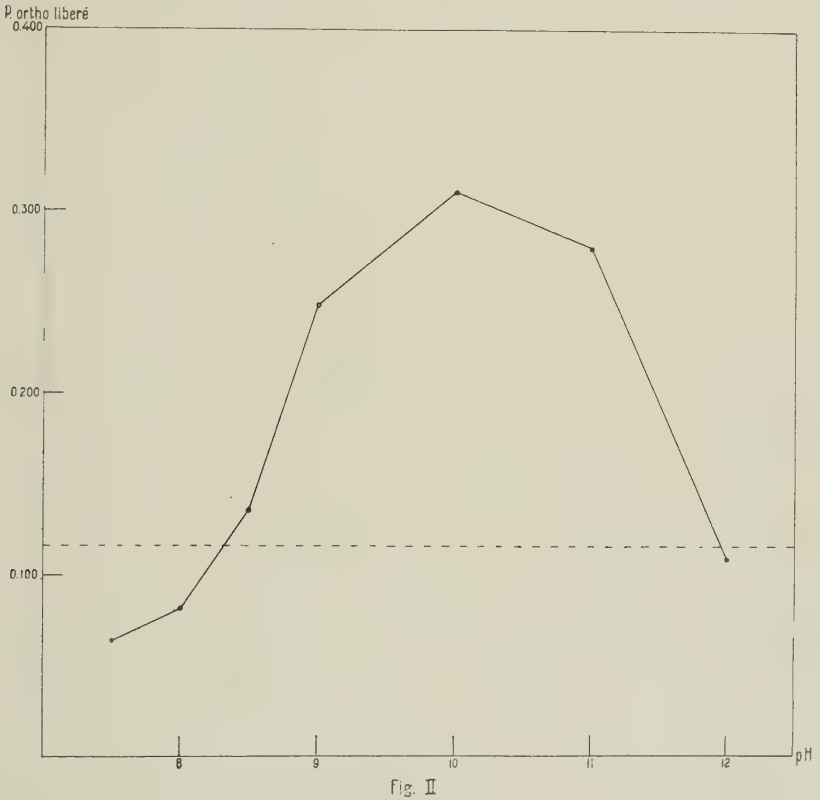


Fig. II

Liberation de l'acide orthophosphorique au cours de l'autolyse du „Staphylocoque doré" a divers pH

l'ordre des phospholipides et des acides nucléiques. Le ralentissement progressif de la libération autolytique de l'acide orthophosphorique, au fur et à mesure que l'expérience se prolonge, doit être attribué, au moins pour une grande part, à l'inactivation progressive des enzymes en milieu alcalin.

Une expérience, très analogue dans son protocole et dans ses

résultats, a été effectuée sur le staphylocoque doré, autolysant pendant trente-six heures à 30°, en présence de chloroforme et à divers *p*H. Les microbes renfermaient initialement 2,38 % de

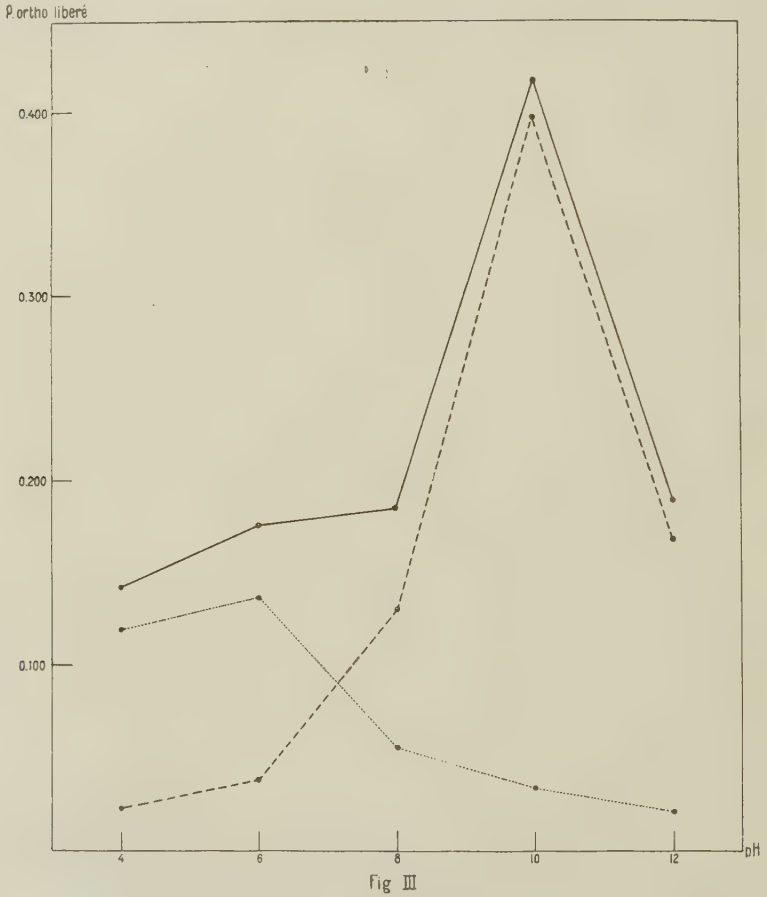


Fig III

Liberation de l'acide orthophosphorique de diverses origines au cours de l'autolyse du „Colibacille."

------ Provenant des composés organiques phosphorés non acido-solubles.
——— Provenant des composés organiques phosphorés acido-solubles.
——— Total.

matières sèches sous forme de phosphore total, et la quantité de phosphore acido-soluble total, de phosphore des orthophosphates et de phosphore acido-soluble autre que celui représenté par les orthophosphates, s'élevaient respectivement à 0,576, 0,459 et

0,117. La figure 2 rend compte de la libération de l'acide orthophosphorique aux divers *p*H, l'horizontale pointillée correspondant à 0,117. Ici encore, l'autolyse fait certainement dériver une fraction importante de l'acide orthophosphorique libéré des composés phosphorés non acido-solubles.

Des expériences effectuées à 37°, ou bien en présence de toluène, ont donné des résultats pleinement en accord avec ceux qui viennent d'être rapportés.

Une attaque active de corps phosphorés acido-insolubles se produit donc au cours de l'autolyse bactérienne, avec libération d'acide orthophosphorique, contrairement à ce qui a lieu, par exemple, pendant l'autolyse du sang (glycolyse), où l'on voit le phosphore total rester constant.

Au cours de l'autolyse, on voit s'abaisser le phosphore non acido-soluble, mais on constate en outre que s'abaisse également le phosphore acido-soluble autre que celui de l'acide orthophosphorique, phosphore qui peut être attribué à l'existence de composés phosphorés organiques acido-solubles de l'ordre des esters phosphoriques et des dérivés nucléotidiques de l'acide pyrophosphorique. Mais cette diminution du phosphore acido-soluble autre que celui des orthophosphates se produit avec un optimum voisin de *p*H 6, à la fois chez le colibacille et chez le staphylocoque doré, comme on peut en juger par les résultats suivants :

Un colibacille renfermait initialement : P acido-soluble total = 0,303, P ortho = 0,113, P acido-soluble autre que ortho = 0,190. Au bout de vingt-quatre heures d'autolyse à 37°, et en présence de chloroforme, on trouve les résultats consignés dans le tableau VI, et représentés dans la figure 3.

TABLEAU VI

Durée du contact	*p*H	P ac.-sol. total (1)	P ortho (2)	P acido-soluble autre que ortho (3)
0	—	0,303	0,113	0,190
24 heures	4	0,326	0,255	0,071
		(+ 0,023)	(+ 0,142)	(— 0,119)
24 —	6	0,341	0,288	0,053
		(+ 0,038)	(+ 0,175)	(— 0,137)
24 —	8	0,432	0,298	0,134
		(+ 0,129)	(+ 0,185)	(— 0,056)
24 —	10	0,701	0,545	0,156
		(+ 0,398)	(+ 0,432)	(— 0,034)
24 —	12	0,471	0,303	0,168
		(+ 0,168	(+ 0,190)	(— 0,022)

Admettons, en première approximation, qu'au cours de l'autolyse, les substances acido-solubles libèrent en définitive seulement de l'acide orthophosphorique, c'est-à-dire admettons que les composés phosphorés organiques acido-solubles, qui peuvent

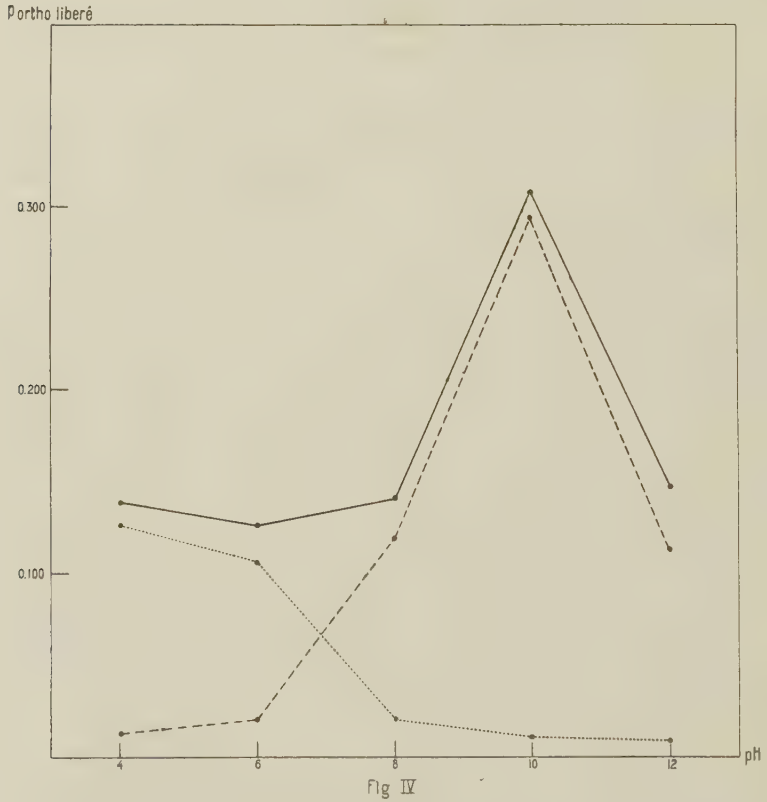


Fig IV

Liberation de l'acide orthophosphorique de diverses origines au cours de l'autolyse du „Staphylocoque doré."

------ Provenant des composés organiques phosphorés non acido-solubles
..... Provenant des composés organiques phosphorés acido-solubles.
——— Total.

être mis en liberté tout d'abord, sont à leur tour rapidement décomposés en acide orthophosphorique, sous l'influence des diastases présidant à l'autolyse. Il en résulte que les chiffres écrits entre parenthèses dans la colonne [1], du tableau VI, représentent l'acide orthophosphorique libéré par l'autolyse des composés non acido-solubles (courbe discontinue en petits traits de

la figure 3), que les chiffres entre parenthèses de la colonne [3] indiquent l'acide orthophosphorique libéré par l'autolyse des composés acido-solubles (courbe discontinue en points de la figure), et enfin que les chiffres entre parenthèses de la colonne [2] sont relatifs à la libération totale de l'acide orthophosphorique (courbe en traits continus de la figure).

Des résultats tout à fait comparables ont été obtenus dans le cas du staphylocoque doré. Ils sont représentés sur la figure 4.

On voit que, tandis que les substances phosphorées acido-insolubles sont attaquées au maximum vers *p*H 10, les substances phosphorées acido-solubles sont attaquées au maximum vers *p*H 6, par les systèmes catalytiques (phosphatases) de la cellule bactérienne. On peut penser qu'on se trouve là en présence de deux enzymes distincts, l'un ayant son optimum en milieu alcalin et pouvant ainsi être comparé à la phosphatase des os et de divers autres tissus animaux (« bone enzyme » de Robison) ; l'autre ayant son optimum en milieu acide et pouvant, de ce chef, être comparé à la phosphatase des hématies et aux quelques phosphatases végétales étudiées (*Aspergillus*, orge germé, etc.), chaque enzyme attaquant une catégorie déterminée des substrats. Il n'est pourtant pas exclu qu'il s'agisse d'un seul et même système catalytique, présentant un *p*H optimum variable selon les substrats, comme la chose est assez probable en ce qui concerne la phosphatase des os, laquelle attaque, à *p*H optimum 9, tous les substrats en dehors des pyrophosphates, dont l'attaque se fait le mieux à *p*H 7. Le lecteur désireux de se documenter sur les travaux récents concernant les phosphatases est renvoyé au livre de Haldane et Stern [23] et à la revue récente de Kay [26].

Nous sommes parvenus, chez le colibacille, à isoler la phosphatase travaillant en milieu acide. Nous nous sommes inspirés, pour cela, de la technique utilisée par Robison et par ses continuateurs (Kay en particulier), en ce qui concerne la préparation des phosphatases animales (voir toute la bibliographie dans la revue de Kay [26]). Une émulsion de colibacille dans l'eau est additionnée de chloroforme, et on abandonne pendant quarante-huit heures à la température ordinaire, après quoi on centrifuge à grande vitesse pour se débarrasser des corps microbiens. En acidulant légèrement le milieu à *p*H 5, on précipite une albumine, et le filtrat limpide, ne renfermant qu'une légère trace de matières protéiques, est mis à dialyser pendant quarante-huit heures, d'abord contre un courant d'eau ordinaire, puis finalement contre un grand volume d'eau distillée. Le liquide obtenu, complète-

ment dépourvu de composés phosphorés, décompose activement à 37°, et avec un optimum de *p*H se situant entre 5 et 6, toute une série d'esters phosphorés, avec libération d'acide phosphorique.

Nous poursuivons actuellement l'étude de la phosphotase du colibacille, en ce qui concerne la cinétique de son action et le retentissement des divers électrolytes (sels de magnésium et autres) sur son activité. Nous publierons ultérieurement l'ensemble de nos résultats. Nous nous bornons actuellement à indiquer quels sont les substrats sur lesquels la diastase s'est montrée nettement active. Les expériences ont été conduites comme suit. On mélangeait 2 centimètres cubes de tampon acétate de sodium-acide acétique de *p*H 5, 2 centimètres cubes de solution diastasique et 2 centimètres cubes de solution du substrat à essayer, renfermant environ 1 milligramme de phosphore (la masse correspondante de substrat ayant été pesée à la microbalance). On ajoutait quelques gouttes de chloroforme et on abandonnait pendant vingt-quatre heures à 37°, après quoi on pratiquait directement le dosage colorimétrique de l'acide orthophosphorique libéré. Chaque série d'essais comportait un témoin à glycérophosphate de sodium destiné à contrôler l'activité de la diastase, un témoin renfermant la diastase et le tampon, mais sans substrat, et un témoin renfermant le tampon, du glycérophosphate et de la diastase inactivée par l'ébullition. Les substrats suivants qui, en dehors du glycérophosphate, ont été préparés antérieurement par l'un de nous (A. B...) au cours d'un tout autre ordre de recherches, nous ont donné des résultats nettement positifs :

Glycérophosphate de sodium commercial ;
Hexoses monophosphates de Robison, de Neuberg et d'Embden ;
Hexose diphosphate de Harden ;
Acides adényliques de levure et du muscle;
Acide guanylique de levure;

des quantités de phosphore de l'ordre de quelques dixièmes de milligramme étant libérés sous forme d'acide orthophosphorique.

ÉTUDE SPÉCIALE DE QUELQUES-UNS DES CONSTITUANTS AZOTÉS ET PHOSPHORÉS DE L'ACIDO-SOLUBLE MICROBIEN

Si l'on se reporte aux chiffres indiqués plus haut, on voit que, selon les espèces bactériennes, l'azote acido-soluble représente de 5 à 20 % de l'azote microbien total. Terroine et Szucs [41, 42, 43] ont récemment montré, en dosant l'azote total et l'azote protidique (*méthode de* Voit) de divers microorganismes, que chez ceux-ci une fraction importante de l'azote total existe dans la cellule sous une forme autre que les albumines. Nos résultats confirment pleinement ces conclusions. En ce qui concerne l'équilibre d'anabolisme-catabolisme entre l'azote des albumines et l'azote des petites molécules diffusibles, la cellule microbienne s'éloigne donc des cellules des animaux supérieurs, où en général presque tout l'azote est engagé dans les albumines. Les cellules des invertébrés (encore bien mal étudiés en général, — voir cependant l'important travail de Delaunay [18]) semblent, par contre, au moins dans certains cas, susceptibles de renfermer une quantité importante d'azote acido-soluble et, de ce fait, se rapprochent de la cellule microbienne. Se comportent également comme cette dernières les cellules de plantes supérieures, aussi bien des plantes « à amides » que des plantes « à acides », où l'azote non protéique peut former, selon les espèces et selon les conditions physiologiques, de 10 à 40 % de l'azote total (voir un exposé de la question dans le livre récent d'Onslow [34]).

Les sels ammoniacaux et les acides aminés. — Mais l'azote acido-soluble groupe certainement des composés très différents entre eux par leur nature chimique et par leur signification physiologique. Il importe de caractériser ces composés et de rechercher leur origine et leur destinée. C'est là un travail de très longue haleine et grande difficulté, et les quelques renseignements que nous apportons, dans ce qui suit, n'ont que la valeur des données préliminaires.

Nous avons tout d'abord reconnu, dans le liquide d'extraction trichloracétique, la présence de sels ammoniacaux, et nous les avons dosés en utilisant la méthode de Parnas [35]. Le plus instructif est d'exprimer cette quantité d'ammoniaque en % de

l'azote acido-soluble total. Nous donnons, dans le tableau VII, les résultats de nos diverses expériences concernant l'azote ammoniacal des bactéries.

TABLEAU VII

Nature des bactéries	N ammoniacal en % de N ac.-sol. dans les diverses expériences			
Staphylococcus aureus	13,09	12,55	14,18	
B. subtilis	11,42	9,05	8,12	
Proteus vulgaris	17,53	24,37		
Micrococcus prodigiosus	13,84	18,66		
B. pyocyaneus	20,42	26,54		
B. coli	22,06	25,82	19,42	23,76

On voit que l'azote ammoniacal représente de 10 à 20 % de l'azote total acido-soluble, avec des variations marquées d'une récolte à l'autre. Nous avons déjà indiqué plus haut que la cellule bactérienne du colibacille laisse diffuser lentement de l'ammoniaque, lorsqu'on l'abandonne en suspension dans l'eau distillée, et SHAUGHNESSY et WINSLOW [39] ont montré que le B. coli suspendu dans une solution de *p*H quelconque tend à amener le *p*H de cette solution aux environs de 6,3 par une diffusion convenablement réglée d'acide carbonique et d'ammoniaque. En soumettant le liquide d'extraction trichloracétique du colibacille à une hydrolyse acide, par un chauffage à « reflux » de quatre heures à 100°, le milieu renfermant de l'acide chlorhydrique à concentration normale, on voit augmenter la quantité des sels ammoniacaux de 19,42 à 24,35 dans une expérience, de 23,76 à 29,90 dans une autre. Cela traduit, selon toute vraisemblance, l'existence d'amides du type asparagine ou glutamine.

Si l'on pratique, sur le liquide trichloracétique, à la fois un dosage d'ammoniaque selon PARNAS, et un dosage d'azote « formol titrable » selon le procédé classique de SÖRENSEN, on obtient, par différence, l'azote attribuable à des acides aminés. Ici encore, nous exprimons nos résultats en % de l'azote acido-soluble total (tableau VIII).

On voit que l'azote des acides aminés représente de 15 à 30 % de l'azote total acido-soluble. Si l'on procède ici encore à l'hydrolyse acide du liquide trichloracétique, on note une augmentation de l'azote aminé qui est parallèle à l'augmentation de l'azote ammoniacal, comme en témoignent les chiffres suivants, fournis par deux expériences sur le colibacille :

		1re expérience	2e expérience
Avant hydrolyse..	N ammoniacal	19,42	23,76
	N ac. animés	21,12	18,74
	Total.....	40,54	42,50
Après hydrolyse...	N. ammoniacal	24,35	29,90
	N. ac. aminés	27,83	25,35
	Total.....	52,18	55,25

Cette augmentation de l'azote des acides aminés doit être attribuée à l'hydrolyse de polypeptides présents dans le liquide trichloracétique. L'existence de tels polypeptides n'est pas douteuse, comme en témoigne la réaction du Biuret, positive, que donnent les liquides d'extraction des divers microbes, réaction qui devient négative lorsqu'on la pratique sur les mêmes liquides ayant subi l'hydrolyse acide. Ces polypeptides sont à molécules relativement petites, car ils dialysent aisément. Si l'on songe que la « formol titration » n'est pas susceptible de déceler la totalité de l'azote renfermé sous une forme quelconque dans les acides aminés (les imidogroupes, etc., lui échappent), on conclura immédiatement que bien plus de la moitié de l'azote acido-soluble des bactéries est renfermée dans les sels ammoniacaux, les amides, les acides aminés et les polypeptides.

TABLEAU VIII

Nature des bactéries	N des ac. aminés en °/₀ de N ac.-sol.	N ammoniacal en °/₀ de N ac.-sol.
Staphylococcus aureus	28,64 24,36	13,09 12,55
B. subtilis.....	15,86 19,22	11,42 9,05
Proteus vulgaris	16,95 14,16	17,53 24,37
Micrococcus prodigiosus.....	23,06	13,84
B. pyocyaneus	18,47	20,42
B. coli	23,22 20,38 21,12 18,74	22,06 25,82 19,42 23,76

Les composés puriques de la cellule microbienne [10]. — Nous nous sommes ensuite préoccupés de rechercher quelle part les composés puriques : polynucléotides, nucléotides, nucléosides

et purines libres, jouent dans la constitution de la cellule microbienne. Nous renvoyons au livre récent de Levene et Bass [28] pour toutes les données concernant ces différents corps. Nous ne ferons que décrire rapidement le principe des méthodes de leur dosage, en priant le lecteur de se rapporter, pour les détails, aux publications antérieures de l'un de nous sur ce sujet (voir spécialement Boivin [4]).

Dans un milieu renfermant des albumines, les tétranucléotides constituant les acides nucléiques demeurent en combinaison insoluble avec les albumines, lorsqu'on déprotéinise par l'acide trichloracétique. Nous avons vérifié que cette règle générale s'applique bien à la cellule microbienne. En dialysant, pendant quarante-huit heures, le liquide d'extraction trichloracétique de *Staphylococcus aureus*, de *B. subtilis*, de *Proteus vulgaris*, de *M. prodigiosus*, de *B. pyocyaneus* et de *B. coli*, à travers un sac de collodion, nous n'avons pu, après hydrolyse acide du résidu de dialyse, mettre en évidence la moindre trace de purine. Le liquide d'extraction trichloracétique ne renferme donc pas traces d'acide nucléique. Nous avions eu soin de nous assurer, au préalable, que nos sacs de collodion ne se laissaient pas traverser par l'acide nucléique de levure. Si donc on dose, d'une part, les purines microbiennes totales après hydrolyse en milieu acide de la suspension bactérienne, et que, d'autre part, on dose les purines acido-solubles totales après hydrolyse acide du liquide trichloracétique, on obtient par différence les purines engagées en acide nucléique.

Dans le liquide trichloracétique, on peut faire directement un dosage des purines libres; par précipitation des nucléotides par l'acétate d'uranyle, suivie de l'hydrolyse acide du précipité nucléotidique, on réalise le dosage des purines des nucléotides. En retranchant des purines acido-solubles totales la somme des purines libres et des purines de nucléotides, on obtient les purines des nucléosides.

Toutes les hydrolyses acides, destinées à libérer les purines, sont effectuées par chauffage « à reflux » à 100°, pendant huit heures, le milieu renfermant de l'acide chlorhydrique à concentration normale. On termine toujours le dosage en précipitant spécifiquement et complètement les purines sous forme de complexes cuivreux, selon l'excellente méthode de Krüger, et en dosant l'azote de ces complexes par micro-Kjeldahl, après élimination soignée de toutes traces d'ammoniaque.

Le tableau IX résume nos résultats. Les chiffres indiqués représentent tous des moyennes.

TABLEAU IX

Bactéries	Nombre d'expériences	N purique total en °/₀ N total	En °/₀ de N total ac.-sol.				Rapport $\frac{\text{N purique ac.-sol.}}{\text{N purique total}} \times 100$
			N purique des purines libres	N purique des nucléosides	N purique des nucléotides	N purique acido-soluble total	
Staphylococcus aureus	4	9,39	0,22	2,26	1,40	3,88	7,2
B. subtilis	3	7,81	0,20	7,80	1,06	9,06	19
Proteus vulgaris	3	9,12	0,71	19,62	3,57	23,90	27
M. prodigiosus	3	9,07	0,65	6,27	3,85	10,77	10,5
B. pyocyaneus	3	8,73	0,39	5,85	4,33	10,57	10,3
B. coli	5	8,75	0,59	6.85	4,16	11,60	6,2

D'une expérience à l'autre, le même germe donne des résultats assez voisins, en ce qui concerne la participation des divers composés puriques dans l'azote microbien total et dans l'azote acido-soluble. Ainsi, par exemple, en ce qui concerne le *Staphylococcus aureus* (4 expériences), les variations extrêmes par rapport aux moyennes du tableau IX sont les suivantes :

N purique total exprimé en % de N total..... de — 11,4 à + 9,3 %
N purique ac.-sol. libre exprimé en % de N. total ac.-sol. ..... — 21,3 à + 27,4
N purique ac.-sol. des nucléosides exprimé en % de N total ac.-sol..... — 18,6 à + 25,3
N purique ac.-sol. des nucléotides exprimé en % de N total ac.-sol..... — 26,5 à + 19
N purique ac.-sol. total exprimé en % de N total ac.-sol. ..... — 15,8 à + 26,2

Les autres germes donnent des variations du même ordre.

Il est intéressant de noter que nous retrouvons, en ce qui concerne les différents composés puriques, ces variations de récolte à récolte déjà constatées en ce qui concerne divers autres constituants de la cellule microbienne : ammoniaque, acides aminés, composés phosphorés acido-solubles, orthophosphates, etc., etc. Il apparaît que la cellule microbienne présente une assez grande variabilité dans sa constitution chimique, en fonction de ces changements — bien difficiles à préciser — dans les conditions où se trouve placée d'un jour à l'autre une même bactérie,

cultivée de la même façon, sur une gélose de même formule. Pour le but que nous poursuivons actuellement : déterminer, en première approximation, la composition de l'acido-soluble bactérien, une telle variabilité n'a pas d'importance. Mais si l'on désirait poursuivre des études sur le plan physiologique, en se préoccupant des causes qui peuvent faire varier tel ou tel constituant cellulaire, il faudrait de toute nécessité opérer les cultures dans des conditions rigoureusement standardisées.

On voit que 73 à 94 % de l'azote purique total est sous la forme acido-insoluble, c'est-à-dire sous la forme d'acides nucléiques. Dans le cas des 6 microorganismes étudiés, la purée microbienne initiale renfermait en moyenne et respectivement 24,6, 20,8, 19,9, 26, 21,2, 22,5 % de substances sèches. Rapporté à 100 parties de cette purée microbienne fraîche, l'azote purique total représente en moyenne et respectivement, pour les 6 bactéries : 0,29, 0,18, 0,25, 0,29, 0,23, 0,27. Si l'on compare ces chiffres à ceux qu'on trouve dans la littérature, et qui concernent les différents tissus animaux, on remarque que les bactéries sont nettement plus riches en purines que des organes comme le foie, la rate où les nucléoprotéides abondent. Seul le thymus, avec une quantité d'azote purique s'élevant à 0,49 % du poids frais de l'organe, se place avant les bactéries. Dans des travaux récents, Terroine et Szucs [41, 42, 43] ont déjà signalé des faits analogues, au sujet de quelques bactéries, et chose intéressante, ces auteurs notent la même grande richesse en acides nucléiques chez les levures à cellules nucléées, et chez les bactéries sans noyaux et à chromatine diffuse.

Admettons, ce qui doit être bien près de la vérité, que toutes les purines non acido-solubles sont engagées en acides nucléiques typiques, c'est-à-dire en tétranucléotides renfermant, pour 4 atomes de phosphore, 2 molécules d'amino-purines (adénine et guanine), soit au total 10 atomes d'azote purique. De la quantité d'azote purique des acides nucléiques, il est facile de passer à la quantité de phosphore engagé dans les mêmes acides nucléiques, et il est instructif de comparer ce phosphore nucléique au phosphore total non acido-soluble, tel qu'il résulte de la différence entre les chiffres fournis par le dosage du phosphore total et par le dosage du phosphore accido-soluble, pratiqués parallèlement aux dosages des purines.

Le tableau X résume ces données, en fournissant des valeurs moyennes.

TABLEAU X

Nature des bactéries	P des ac. nucléiques en °/₀ mat. sèches	P total non ac.-sol. en °/₀ mat. sèches	$\frac{\text{P ac. nucl.}}{\text{P non ac.-sol.}} \times 100$
Staphylococcus aureus ...	0,91	1,78	51
B. subtilis	0,64	2,28	28
Proteus vulgaris	0,81	1,85	44
M. prodigiosus	0,89	1,58	56
B. pyocyaneus	0,89	2,32	38
B. coli	0,97	2,38	41

30 à 50 % du phosphore microbien non acido-soluble se trouvent donc engagés en acides nucléiques. Le reste du phosphore non acido-soluble se rapporte aux phospholipides et aussi peut-être à des phosphoprotéines de l'ordre de celle que P. Thomas a étudiée sur la levure.

L'azote purique acido-soluble représente de 4 à 24 % de l'azote total acido-soluble. La présence de quantités notables de nucléotides puriques libres est intéressante. On connaît déjà leur présence à l'état libre chez certains végétaux supérieurs (par exemple : feuilles de thé); mais on sait surtout combien ces nucléotides sont répandues dans maints tissus animaux: muscles, hématies, etc. Dans le muscle, contrairement à ce qui se passe chez les bactéries, la presque totalité des composés puriques se rencontrent sous forme de nucléotides acido-solubles, le muscle ne renfermant que très peu d'acide nucléique, de nucléosides et de purines libres (voir les beaux travaux de Parnas, en particulier [36, 37]). Mais les bactéries renferment surtout des nucléosides puriques, qui représentent plus de la moitié des purines acido-solubles. Les nucléosides paraissent être peu répandus dans les tissus des animaux supérieurs. Il existe pourtant de petites quantités de nucléosides à adénine et à hypoxanthine dans le muscle; on rencontre, dans les hématies, le nucléoside à ribose et à acide urique découvert par S. R. Benedikt et ses collaborateurs; enfin, au cours de la glycolyse (Parnas et ses collaborateurs), l'acide adénylique des hématies, après s'être transformé en acide inosique, par perte d'ammoniaque, élimine son acide phosphorique et conduit à l'inosine, nucléoside de l'hypoxanthine. Par contre, les nucléosides paraissent être plus répandus dans les cellules végétales. On connaît depuis longtemps la diffusion de la vernine, ou nucléoside de ribose et de guanine, dans

les plantes supérieures, et les travaux de Levene et Sobotka [29] ont révélé l'existence, chez la levure, d'un curieux nucléoside d'adénine combiné avec un sucre tout à fait spécial, qui serait un cétopentose sulfuré et méthylé. Nous poursuivons actuellement l'étude chimique des nucléotides et nucléosides bactériens.

Pendant l'autolyse bactérienne prolongée, on voit, chez le staphylocoque et chez le colibacille, augmenter un peu la quantité de purines acido-solubles, l'augmentation portant principalement sur les nucléosides et surtout sur les purines libres, dont la quantité est souvent multipliée par 10. Nous avons déjà signalé plus haut l'isolement d'une diastase clivant en milieu acide les acides adényliques de levure et de muscle et l'acide guanylique de levure, avec libération d'acide phosphorique et formation d'un nucléoside. Le nucléoside est inattaqué sous l'influence de l'extrait diastasique préparé par nous et qui ainsi ne renferme pas de nucléosidase. Une nucléosidase existe pourtant vraisemblablement dans les bactéries, à en juger par la libération active de purines libres qui s'installe au cours de l'autolyse. Il est possible que les purines libres rencontrées dans les extraits trichloracétiques des bactéries proviennent, pour une part au moins, de la cellule en voie d'autolyse; mais il ne faut pas oublier que, au moins en traces, les purines libres sont répandues dans la matière vivante et cela même chez les animaux supérieurs (voir Boivin [4]).

Les dérivés de l'acide pyrophosphorique de la cellule microbienne [11]. — Les belles recherches de Lohmann [30, 31, 32] ont révélé l'existence de l'acide pyrophosphorique dans le muscle, dans divers tissus animaux et végétaux, chez la levure et chez quelques bactéries. Mais on s'est aperçu bientôt que, dans le cas du muscle tout au moins, l'acide pyrophosphorique n'existe pas à l'état de pyrophosphates minéraux. Il est combiné, sous forme d'un complexe peu stable, avec l'acide adénylique, en acide adénylpyrophosphorique. Les diastases du muscle peuvent cliver ce complexe en attaquant à la fois sa copule pyrophosphorique avec libération d'acide orthophosphorique et sa copule acide adénylique avec libération d'ammoniaque résultant de la désamination de l'adénine. On fait jouer actuellement un grand rôle à l'acide adénylpyrophosphorique, dans la chimie du muscle. Tout d'abord, il semble que c'est sa décomposition exothermique qui fournit l'énergie nécessaire pour la resynthèse endothermique du phosphagène, la resynthèse endothermique de l'acide adénylpyrophosphorique s'effectuant par couplage avec la

décomposition exothermique du glycogène en acide lactique (Meyerhof). D'autre part, on s'est aperçu que l'acide adénylpyrophosphorique n'est autre chose que la composante organique du coferment intéressant la glycolyse musculaire, la composante minérale ayant été identifiée à l'ion magnésium Mg. ++. Le coferment de la fermentation alcoolique semble comporter, lui aussi, à côté de l'ion magnésium, un complexe d'acide adénylique et d'acide pyrophosphorique qui est sans doute un isomère de celui du muscle.

Lohmann a estimé l'acide pyrophosphorique de quelques bactéries (staphylocoque, vibrion cholérique, *azotobacter*) en dosant l'acide orthophosphorique libéré par une hydrolyse de sept minutes à 100°, le milieu étant acidulé à concentration normale par de l'acide chlorhydrique. Cette façon de faire n'est admissible qu'à la stricte condition que les bactéries ne renferment pas de composés phosphorés aisément hydrolysables, en dehors de l'acide pyrophosphorique. En effet, en sept minutes, les esters hexose-monophosphoriques, d'hydrolyse difficile, ne perdent que très peu de phosphore, mais des corps faciles à hydrolyser, comme l'ester hexose-diphosphorique de Harden et Young, perdent beaucoup de leur phosphore, et les acides guanidine-phosphoriques (les « phosphagènes »), d'hydrolyse extrêmement facile, perdent la totalité de leur phosphore. Il est bon de préciser cela par quelques chiffres. On sait que l'hydrolyse des esters phosphorés, en milieu acide et à température fixe, suit la loi des réactions monomoléculaires, le facteur de vitesse k ayant une valeur d'autant plus élevée que l'hydrolyse est plus facile. Si l'on compte le temps en minutes et qu'on emploie les logarithmes décimaux, on trouve que, dans le cas de l'ester de Robison, par exemple, $k = 0{,}2 \times 10^{-3}$ à 100°, et en milieu ClH N, en sorte qu'en sept minutes la libération d'acide phosphorique n'atteint pas 1 % du phosphore total de l'ester. Au contraire, dans le cas de l'ester de Harden, $k = 22 \times 10^{-3}$, en sorte que dans les mêmes conditions l'ester perd 30 % du phosphore fixé au carbone n° 1 du fructose.

Reprenant l'étude des pyrophosphates de la cellule bactérienne, nous avons commencé par nous assurer de l'absence de combinaisons phosphorées très instables en milieu acide, du type des deux phosphagènes musculaires [11]. Pour cela, nous avons soumis les bactéries à des extractions trichloracétiques très rapides (quelques minutes seulement) et à basse température, puis nous avons appliqué ensuite la technique de recherches du

phosphagène de Meyerhof (voir le livre récent de Meyerhof [33] pour toute la bibliographie de la question), aussi bien la technique de l'hydrolyse rapide en milieu très acide valable pour l'acide créatine-phosphorique, que la technique d'hydrolyse lente en milieu modérément acide, valable pour l'acide arginine-phosphorique. Les résultats ont été négatifs dans tous les essais pratiqués sur les bactéries suivantes : *B. coli, Staphylococcus aureus, Proteus vulgaris, M. prodigiosus, B. pyocyaneus* et *B. subtilis.*

Lorsqu'on hydrolyse à 100°, en présence de ClH N, le liquide

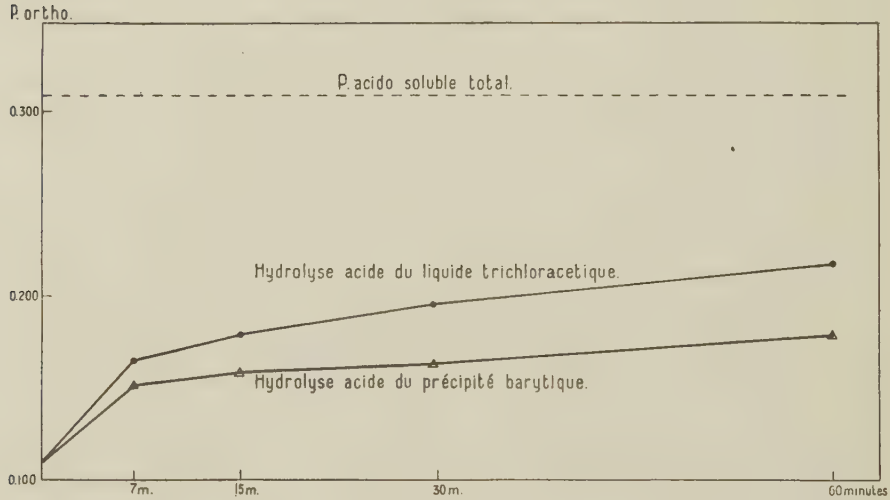


Fig. V.

Hydrolyse acide des composés phosphorés du „Colibacille".

d'extraction des bactéries par l'acide trichloracétique, et qu'on étudie la courbe réprésentant la libération de l'acide phosphorique en formation du temps (voir fig. 5 et 6, courbes supérieures en traits pleins), on s'aperçoit qu'il existe certainement, en dehors des pyrophosphates, dont l'hydrolyse est terminée en sept minutes, d'autres composés phosphorés moins facilement hydrolysables, certes, mais encore trop rapidement décomposés pour que la totalité de PO_4H_3 libéré en sept minutes soit attribuable au seul acide pyrophosphorique. Plusieurs expériences, effectuées sur le colibacille et sur le staphylocoque, ont donné des résultats concordants à cet égard; deux d'entre elles sont traduites par les graphiques des figures 5 et 6. On peut penser à l'existence, dans

la cellule bactérienne, de quelques esters du type Harden. Profitant des constatations de Lohman [30, 31, 32] et de celles de Boyland [12], et nous inspirant de la technique de Eggleton [20], nous avons fractionné les composés phosphorés de l'extrait trichloracétique par précipitation avec la baryte, au virage naissant de la thymolphtaléine. Les esters hexose-phosphoriques restent en solution, pendant que ortho- et pyrophosphates précipitent quantitativement. On lave le précipité avec un petit volume d'acide trichloracétique N/4 amené par de la baryte au virage de la thymolphtaléine. On trouve pratiquement le même chiffre d'or-

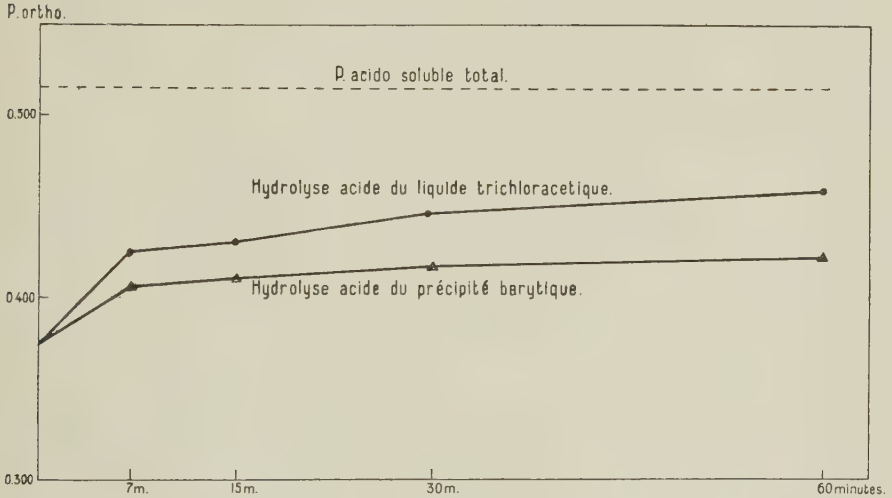


Fig. VI.

Hydrolyse acide des composés phosphorés acido-solubles du „Staphylocoque doré".

thophosphates, en faisant porter le dosage soit sur le liquide trichloracétique directement, soit sur le précipité barytique redissous dans l'acide chlorhydrique dilué. Ainsi, dans l'exemple de la figure 5, on a trouvé, chez le colibacille, une quantité d'orthophosphates valant 0,109 directement et 0,107 dans le cas du précipité barytique. Dans l'exemple de la figure 6, on a trouvé, chez le staphylocoque, 0,377 avant la précipitation barytique, 0,372 après la précipitation. Si l'on détermine la courbe d'hydrolyse acide des composés phosphorés qui ont précipité par la baryte, on voit qu'il demeure seulement, dans le précipité barytique, de petites quantités de composés phosphorés hydrolysables avec une vitesse appréciable, en dehors bien entendu de l'acide

pyrophosphorique totalement décomposé en sept minutes (voir, fig. 5 et 6, courbes inférieures en traits pleins). Donc, l'augmentation de la quantité de phosphore orthophosphorique, au bout de sept minutes d'hydrolyse acide du précipité barytique, donne une valeur, légèrement faussée par excès, du phosphore pyrophosrique initialement présent dans l'extrait trichloracétique.

S'il existe dans la cellule microbienne un complexe nucléotide-pyrophosphorique renfermant, comme dans le muscle, la totalité de l'acide pyrophosphorique et pratiquement la totalité du nucléotide, on doit trouver une valeur constante et égale à deux pour le rapport du phosphore pyrophosphorique au phosphore nucléotidique. C'est bien là, en effet, ce que semble indiquer l'expérience. Dans le tableau XI, nous résumons nos résultats. Ici encore, et pour plus de simplicité, nous avons donné seulement des moyennes exprimées en % du poids des microbes secs. D'une récolte à l'autre d'un même microbe, le phosphore nucléotidique et le phosphore pyrophosphorique varient assez largement, mais les pyrophosphates suivent nettement les nucléotides dans leurs fluctuations, le rapport dont il est question plus haut oscillant entre 2 et 3. Les nucléotides étant dosés par l'azote purique qu'ils renferment, nous avons dû faire une hypothèse sur la nature des purines contenues dans ces nucléotides, pour pouvoir passer, par le calcul, de l'azote nucléotidique au phosphore nucléotidique. Nous avons supposé que, comme dans le cas du muscle, il s'agit essentiellement d'amino-purines. Ce n'est pas là une hypothèse gratuite, car nous avons déjà pu vérifier que l'adénine, dont nous avons isolé et caractérisé le picrate, forme au moins la majeure partie des nucléotides du colibacille et du staphylocoque.

TABLEAU XI

Bactéries	Nombre d'expériences	P ac.-sol. total	P ortho	P pyro	P nucléotide purique	Rapport $\frac{\text{P pyro}}{\text{P nucléot.}}$
Staphylococcus aureus	3	0,584	0,423	0,034	0,014	2,4
B. subtilis	3	0,563	0,293	0,023	0,009	2,5
Proteus vulgaris	3	0,629	0,278	0,052	0,020	2,6
M. prodigiosus.	3	0,538	0,261	0,052	0,022	2,4
B. pyocyaneus.	3	0,477	0,103	0,049	0,022	2,2
B. coli	3	0,292	0,092	0,039	0,014	2,8

Compte tenu du fait que notre dosage des pyrophosphates donne des résultats un peu trop forts, il apparaît, à la lecture du tableau XI, qu'approximativement le phosphore engagé en acide pyrophosphorique représente le double du phosphore présent dans les nucléotides puriques. L'existence, dans la cellule microbienne, d'un complexe analogue à l'acide adénylpyrophosphorique du muscle, devient par là très vraisemblable. On pourrait se demander si, par analogie avec ce qui se passe dans le muscle (Parnas), ce complexe ne serait pas à l'origine de l'ammoniaque qu'on rencontre dans la cellule microbienne, ammo-

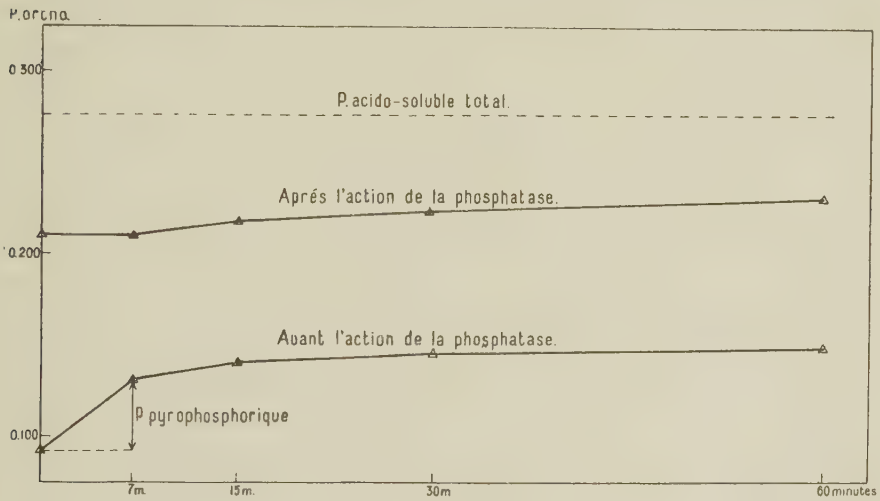


Fig. VII.

Courbes d'hydrolyse acide du precipité obtenu a partir de l'extrait trichloracetique de „Colibacille".

niaque qui résulterait alors d'une désamination de l'adénine se transformant en hypoxantine ? L'hypothèse ne paraît guère pouvoir être retenue, si l'on songe que, contrairement à ce qui a lieu dans le muscle, la quantité d'ammoniaque renfermée dans la cellule microbienne est considérablement plus grande que la quantité d'azote aminé des nucléotides puriques présents au même moment dans le microbe.

Si, au lieu d'exprimer les résultats en % de matières sèches, on les calcule en % de purée microbienne fraîche, on trouve que le phosphore des orthophosphates représente de 0,020 (coli bacille) à 0,099 (staphylocoque), et que le phosphore des pyro-

phosphates représente de 0,005 (Subtilis) à 0,0011 (Proteus) %. Il est intéressant de rapprocher ces chiffres de ceux que fournit le tissu animal le mieux étudié de ce point de vue, le muscle de grenouille : P ortho = 0,015, et P pyro = 0,025 % du poids frais.

Nous avons pu nous rendre compte que l'extrait diastasique préparé à partir du colibacille, selon la technique décrite plus, haut, est susceptible d'hydrolyser non seulement le pyrophosphate de sodium, mais encore l'acide pyrophosphorique organiquement lié, tel qu'il se présente dans l'extrait trichloracétique

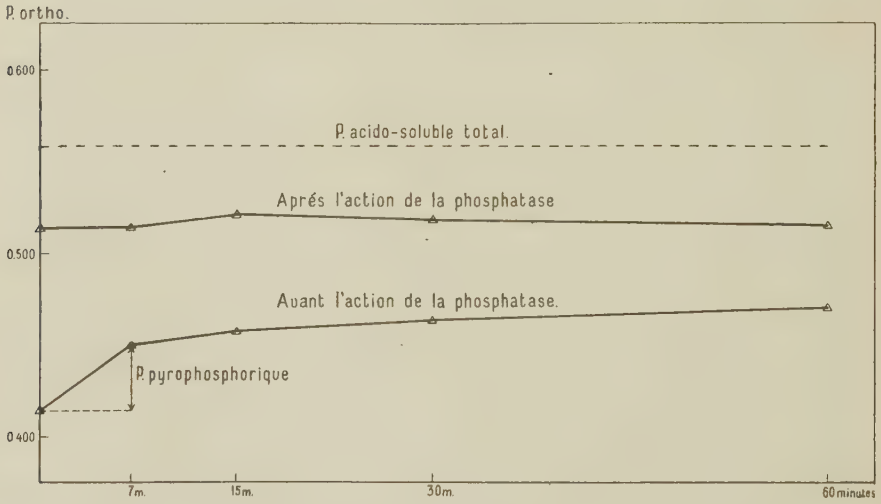


Fig. VIII

Courbes d'hydrolyse acide du precipité obtenu à partir de l'extrait trichloracetique de „Staphylocoque doré".

neutralisé de colibacille et de staphylocoque. En opérant à *p*H 7, pour éviter une décomposition de l'acide pyrophosphorique par l'acidité du milieu, on assiste à l'hydrolyse diastasique lente des pyrophosphates. Lorsqu'on emploie du pyrophosphate de sodium, l'hydrolyse est très simplement décelée par l'apparition de l'acide ortho-phosphorique. Dans le cas où on utilise l'extrait trichloracétique neutralisé, les phénomènes sont plus complexes. En effet, sous l'influence de la phosphatase colibacillaire, sont attaqués non seulement les pyrophosphates de l'extrait, mais encore et à une large extension, les autres composés phosphorés qui les accompagnent, en sorte qu'il s'installe une importante augmen-

tation de l'acide orthophosphorique, dont une faible part seulement peut être attribuée au clivage des pyrophosphates. On fait appel à la courbe d'hydrolyse acide du précipité barytique (voir fig. 7 et 8). La comparaison des courbes obtenues avant et après l'action de la diastase ne laisse aucun doute quant à la réalité de la décomposition enzymatique totale des pyrophosphates de l'extrait trichloracétique du colibacille et du staphylocoque. De la même façon, nous avons pu nous assurer que l'autolyse microbienne, en présence de chloroforme et à 37°, s'accompagne de la décomposition des pyrophosphates, aussi bien chez le staphylocoque que chez le colibacille. Ces derniers résultats sont en parfait accord avec ce qu'a trouvé LOHMANN au cours de l'autolyse de la levure.

CONCLUSIONS ET RÉSUMÉ

Dans le présent travail, nous avons décrit et justifié une technique permettant d'étudier les substances « acido-solubles » de la cellule microbienne. Cette technique est caractérisée essentiellement par l'emploi de l'acide trichloracétique comme réactif déprotéinisant.

La cellule microbienne nous est apparue comme douée d'une remarquable plasticité chimique, sa composition pouvant varier assez largement selon la nature du milieu ambiant, et en particulier selon l'équilibre des électrolytes renfermés dans ce milieu. Une même bactérie, cultivée dans les mêmes conditions apparentes, sur une gélose de formule constante, puis lavée à l'eau distillée par centrifugation, peut montrer, d'une récolte à l'autre, une composition quelque peu variable en ce qui concerne tout spécialement les substances azotées et phosphorées acido-solubles. Nous avons discuté la signification de ces faits. Du point de vue pratique, ils ne permettent d'attribuer à chaque espèce bactérienne qu'un « ordre de grandeur » en ce qui concerne ses divers constituants acido-solubles.

Nous nous sommes surtout préoccupés, dans le présent travail, d'identifier quelques-uns de ces constituants acido-solubles de la cellule bactérienne et de discuter leur signification du point de vue de la biochimie comparée. Nous avons pu ranger, dans des classes de corps connus, environ les trois quarts de l'azote bactérien acido-soluble et montrer le rôle que jouent, dans la cellule microbienne, les sels ammoniacaux et les amides, les acides ami-

nés libres et engagés en polypeptides à petites molécules, les composés puriques sous leurs diverses formes : nucléotides, nucléosides et purines libres. Nous avons mis en lumière comment le phosphore acido-soluble se partage entre les orthophosphates, les pyrophosphates combinés en complexes nucléotidiques et les composés organiques phosphorés du type d'esters proprement dits et du type des nucléotides puriques.

Quittant le domaine purement statique, nous nous sommes préoccupés d'étudier les catalyseurs intervenant dans l'équilibre dynamique de toutes ces substances, et nous avons pu isoler déjà une phosphatase attaquant à *p*H optimum acide de nombreux composés phosphorés et intervenant activement au cours des phénomènes d'autolyse de la cellule microbienne.

Nous nous faisons un devoir de remercier ici la *Fondation Rockefeller* qui, par son aide matérielle, a contribué à permettre l'exécution du présent travail.

BIBLIOGRAPHIE

1. Barber : « Cercetări asupra compoziției chimice a cenușei câtorva specii microbienne (Recherches sur la composition chimique des cendres de quelques espèces microbiennes). (*Thèse* de doctorat en pharmacie, 44 pages, Bucarest, 1931, en roumain.)
2. Bernard (Claude) : *Leçons sur les propriétés des tissus vivants.* 1 vol., 492 pages, Paris, 1866.
3. Boivin : « Le microdosage du carbone par oxydation sulfochronique et le microdosage de l'azote par destruction sulfurique. » (*Conférence de la Société de Chimie biologique,* 141 pages ; *Bull. Soc. Chim. biologique,* 1929, t. XI, p. 1269.)
4. Id. : « Contribution à l'étude biochimique des corps puriques et pyrimidiques de l'organisme. (*Thèse* de doctorat ès sciences, 146 pages, Paris, 1931.)
5. Boivin et Mesrobeanu (L.) : *C. R. Soc. Biol.,* 1932, t. 112, p. 76.
6. Id. : *Ibid.,* 1932, t. 112, p. 611.
7. Id. : *Ibid.,* 1932, t. 112, p. 1009.
8. Boivin, Mesrobeanu (I.) et Mesrobeanu (L.) : *C. R. Soc. Biol.,* 1933, t. 113, p. 490.
9. Boivin et Mesrobeanu (L.) : *C. R. Soc. Biol.,* 1933, t. 114, p. 302.
10. Id. : *Ibid.,* 1933, t. 114, p. 305.
11. Boivin, Mesrobeanu (I.) et Mesrobeanu (L.) : *C. R. Soc. Biol.,* 1933, t. 114, p. 307.
12. Boyland : *Biochem. Journ.,* 1930, t. 24, p. 350.
13. Braun et Cahn-Bronner : *Biochem. Zeit.,* 1922, t. 131, p. 226.
14. Briggs : *Journ. Biol. Chem.,* 1922, t. 53, p. 13, et 1924, t. 59, p. 255.
15. Cramer : *Arch. f. Hyg.,* 1893, t. 16, p. 151.
16. Id. : *Ibid.,* 1897, t. 28, p. 1.

17. Damboviceanu et Barber : « Contributions à l'étude de la composition chimique (cendres) des bactéries. » (*Arch. roum. de Pathol. expérim. et de Microbiol.*, 1931, t. 4, p. 5.)
18. Delaunay : « Recherches biochimiques sur l'excrétion azotée chez les Invertébrés. » (*Thèse* de doctorat ès sciences, Paris, 1927.)
19. Dawson : *Journ. Bacter.*, 1919, t. 4, p. 133.
20. Eggleton (G.-P.) et Eggleton (P.) : *Journ. of Physiol.*, 1929, t. 68, p. 129.
21. Frouin et Guillaume : *C. R. Soc. Biol.*, 1926, t. 94, p. 1340.
22. Guilleman et Larson : *Journ. Inf. Dis.*, 1922, t. 31, p. 355.
23. Haldane et Stern : *Allgemeine Chemie der Enzyme.* 1 vol., 367 pages, Dresden et Leipzig, 1932.
24. Hill : *Adventures in biophysics.* 1 vol., 162 pages, London, 1931.
25. Kay : *Journ. Biol. Chem.*, 1931, t. 93, p. 727.
26. Id. : *Physiol. Rev.*, 1932, t. 12, p. 384.
27. Koser et Rettger : *Journ. Infect. Dis.*, 1919, t. 24, p. 301.
28. Levene et Bass : *Nucleic acids.* 1 vol., 337 pages, New-York, 1931.
29. Levene et Sobotka : *Journ. of Biol. Chem.*, 1925, t. 65, p. 551.
30. Lohmann : *Biochem. Zeit.*, 1928, t. 202, p. 466.
31. Id. : *Ibid.*, 1928, t. 203, p. 164.
32. Id. : *Naturwiss.*, 1929, t. 31, p. 624.
33. Meyerhof : *Chimie de la contraction musculaire* (traduction française de Genevois). 1 vol., 402 pages, Paris, 1932.
34. Onslow : *The principles of plant biochemistry.* Part. I. 1 vol., 326 pages, Cambridge, 1931.
35. Parnas : *Biochem. Zeit.*, 1924, t. 152, p. 1.
36. Id. : *Ibid.*, 1929, t. 206, p. 16.
37. Id. : *C. R. Soc. Biol.*, Réun. plén., 1929, t. 101, p. 37.
38. Schweinitz et Dorset : *Journ. Amer. Chem. Soc.*, 1898, t. 20, p. 618.
39. Shaughnessy et Winslow : *Journ. Bact.*, 1927, t. 14, p. 69.
40. Stephenson : *Bacterial Metabolism.* 1 vol., 320 pages, London, 1930.
41. Terroine et Szucs : *Ann. Physiol. et Physico-Chim. Biol.*, 1930, t. 6, p. 129.
42. Id. : *Ibid.*, 1930, t. 6, p. 150.
43. Id. : *Ibid.*, 1930, t. 6, p. 157.
44. Winslow et Falk : *Journ. Bacter.*, 1923, t. 8, p. 237.

Le Gérant : J. Caroujat. NIORT. — IMP. TH. MARTIN